

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569		
Název projektu pokusů		
Produkce diagnostických protilátek pro analýzu hostitelsko-parazitických interakcí kapra obecného (<i>Cyprinus carpio</i>) a parazita <i>Sphaerospora molnari</i>		
Doba trvání projektu pokusů - v měsících	36	
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾	Monoklonální protilátky, polyklonální séra, kapr obecný, <i>Sphaerospora molnari</i> , imunizace	
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 a běžná výroba	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		
Hlavním cílem je produkce protilátek rozeznávajících povrchové struktury leukocytů kapra obecného a povrchové struktury buněk <i>Sphaerospora molnari</i> , kapřího parazita ze skupiny Myxozoa. Projekt pokusů cílí na produkci polyklonálních sér a produkci hybridomových linií, produkujících monoklonální protilátky. Získané protilátky budou použity pro základní výzkum hostitelsko-parazitických interakcí mezi kaprem obecným a jeho parazitem <i>Sphaerospora molnari</i> , zejména pro imunofenotypizaci populací leukocytů v průběhu infekce, identifikaci parazitických stádií a diagnostiku protilátkové odpovědi.		
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)		
Hlubší porozumění základním principům imunitní odpovědi u rybích modelů je limitováno absencí diagnostických protilátek, umožňujících imunofenotypizaci bílých krvinek. V současnosti jsou komerčně dostupné pouze tři protilátky rozeznávající B lymfocyty (IgM) a T lymfocyty (CD4, CD8), jež však nedovolují identifikaci efektorových subpopulací leukocytů. U kapřího parazita <i>Sphaerospora molnari</i> protilátky chybí zcela, což znesnadňuje identifikaci parazitických buněk v krevním řečišti a tkáních. Hlavním potenciálním přínosem projektu pokusů je rozšíření počtu dostupných diagnostických protilátek proti leukocytům kapra a buňkám parazita <i>Sphaerospora molnari</i> , které budou využity pro studium imunitní odpovědi ryb proti této skupině parazitů. Vzhledem k tomu, že v rámci tohoto projektu pokusu budou vytvářeny hybridomové linie, produkující monoklonální protilátky, lze očekávat významné dlouhodobé přínosy pro celé odvětví.		
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání		
Laboratorní zvířata (myši a králíci) budou použita pro generaci specifických protilátek po opakované imunizaci (s.c. u králíků / i.p. u myši - injekce, 5 x ve 14 denních intervalech) antigenem (rekombinantní protein, homogenát leukocytů kapra obecného, homogenát parazitických buněk). Po skončení imunizace budou myši/králíci usmrceni a následně vykrveni. Ze sleziny imunizovaných myši budou izolovány plasmatické B lymfocyty pro hybridomovou fúzi.		
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků		
Experimentální vakcinace budou prováděny podle rutinně používaného protokolu pouze proškoleným personálem. Během imunizací neočekáváme žádné nepříznivé účinky na zvířata.		
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu		
		Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti

Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	90		x		
Králík domácí (Oryctolagus cuniculus)	20		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 - <i>uved'te</i>					
Po ukončení pokusu budou zvířata usmrcena a kadáver bude odevzdán k likvidaci asanační službou.					
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 součástí živých organismů a experimentální imunizace je nezbytným krokem k získání polyklonálních protilátek, stejně jako plasmatických B lymfocytů pro buněčnou fúzi. Ačkoli hybridomová technologie umožňuje neomezenou produkci protilátek v tkáňových kulturách <i>in vitro</i> , čímž redukuje počty imunizovaných zvířat, nahrazení samotné imunizace není možné.					
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>					
Počty zvířat pro jednotlivé pokusy budou zodpovědně plánovány a omezeny na nezbytně nutné množství z hlediska statistického zpracování získaných dat.					
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>					
Manipulace se zvířaty bude omezena na nejnútnejší úkony v rámci prováděných pokusů s cílem omezit stres na nejnížší možnou úroveň. Se zvířaty pracuje pouze proškolený personál a nadměrné manipulace se neprovádějí.					
Použití druhů zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>					
Pro plánované pokusy jsou nezbytné laboratorní myši a králíci. Králíci budou použiti k produkci polyklonálních sér, pro experimentální imunizaci vybraným antigenem, U laboratorních myší je cílem imunizace především izolace plasmatických B lymfocytů pro hybridomovou fúzi.					

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