

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ 15-2019	
Název projektu pokusů	
Studium imunitní odpovědi na rekombinantní proteinové a chimerické polyepitopové vakcíny indukující neutralizační protilátky s využitím technologie vysokoafinitních ligandů	
Doba trvání projektu pokusů	od nabytí právní moci - 12/2022
Klíčová slova - maximálně 5	neutralizační protilátky, chimerický antigen, proteinové mimetikum, mimotop
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
	☐ základní výzkum
x	☒ translační nebo aplikovaný výzkum
	☐ 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)	
1. Ověřit imunogenicitu rekombinantních epitopů a polyepitopů mimikujících různé virové a bakteriální antigeny. 2. Charakterizovat koncentraci a neutralizační aktivitu indukovaných protilátek a parametry buněčné imunity.	
Právěpodobné 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)	
Navržené experimenty pomohou identifikovat vhodné proteinové antigeny schopné napodobit glykosylované antigeny, které mají nízkou imunogenicitu, a vyvolat tak tvorbu protilátek se stejnou specificitou a vazebnými schopnostmi jako původní protilátky.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Králik domácí, 2,5 – 3 kg, celkem 195 jedinců, obojího pohlaví	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Používané vakcinační postupy vyvolávají pouze lokální projevy spočívající v mírném zatvrdnutí v místě vpichu případně v lehké ulceraci při subkutánní aplikaci. Dosavadní experimenty s podobně koncipovanými imunizačními postupy nevykázaly žádné jiné nežádoucí známky (Knotigova et al., Pharm Res. 2015 32(4):1186-99; Krupka et al., J Control Release. 2012 Jun 10;160(2):374-81). Po skončení pokusu budou kadavery odvezeny do asanačního ústavu Medlov.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Imunizační experiment na zvířeti je nezbytný, neboť neexistuje žádný adekvátní <i>in vitro</i> model umožňující spolehlivě předpovědět kvalitu, intenzitu a systémovou versus slizniční distribuci imunitní odpovědi po imunizaci mimotopy v kombinaci Freundovým adjuvans.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Celkový plán počtu použitých pokusných zvířat je stanoven s ohledem na rozsah imunizačních experimentů (nutnost testování vybraných vazebných ligandů v kombinaci s již dříve používaným a ověřenými adjuvans (Masek et al., J Control Release. 2011 151(2):193-201). Dále je nutné do pokusu zahrnout kontrolní skupiny (skupina, které nebude podán antigen, ale pouze adjuvans a skupiny, kterým bude podán antigen bez adjuvans) a je nutné ověřit různé způsoby aplikace vakcinační dávky (intramuskulární, subkutánní a sublinguální podání). Do jednotlivých pokusných skupin bude řazen minimální statisticky vyhodnotitelný počet zvířat - 5 jedinců na jednu skupinu, což je počet zvířat určený ze standardní deviace a průměrných hodnot titru specifických protilátek při použití t-testu a hodnotě prahu významnosti 0,05.	
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.	
S laboratorními zvířaty se nakládá dle pravidel uvedených v zákonu č. 246/1992 a vyhlášce č. 419/2012, kde je jasné vymezení způsobů nakládání s laboratorními zvířaty. Jednotlivé experimentální pokusy - imunizace a odběr biologických vzorků jsou jen mírně bolestivé zákroky a tyto budou prováděny podle standardů práce s laboratorními zvířaty. Žádné jiné zákroky nebudou na zvířatech prováděny. Terminální odběr krve a dalších biologických vzorků bude proveden v celkové anestezii. Zvířata budou denně monitorována veterinárním lékařem a nebudou cíleně vystavena utrpení. V případě trvalého poškození zdravotního stavu zvířat v průběhu pokusu bude zvíře humánně utraceno.	