

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 27/2020

Název projektu pokusů

Heterogenita a role imunitních buněk thymu v navození tolerance (20-30350S)

Doba trvání projektu pokusů 5 let

Klíčová slova - *maximálně 5* Thymus, tolerance, mTEC, dendritická buňka, antigenní transfer

Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka

☒	základní výzkum
☐	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)

Cílem tohoto projektu pokusů je: i) objasnit heterogenitu buněk podílejících se na antigenním transferu v thymu, ii) odhalit molekulární mechanismy, jejichž prostřednictvím antigenní transfer probíhá.

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)

Projekt je zaměřen na základní výzkum zcela esenciálních buněčných mechanismů, které vedou k prevenci autoimunitních onemocnění. Jejich studium je přínosné pro identifikaci možných cílů léčby těchto onemocnění a zároveň nezbytné pro pochopení principů důležitých pro fyziologický stav organismu.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

V navrženém projektu pokusů budou použity dospělé myši ve věku 3-10 týdnů. Celkem se jedná o 16 různých modelů: C57Bl/6J, C57Bl/6NCrI, ROSA-tdTomato, Confetti Brainbow2.1, Foxn1-Cre, Csnb-Cre, Defa6-iCre, Adig-GFP, MHC-II-EGFP, HCO-low, HCO-high, DO11.10, Ly 5.1, CD11c-Cre, CX3CR1_Cre, CXCR2fl/fl. V rámci tohoto projektu pokusů bude ročně použito k experimentálním účelům 300 jedinců, tj. 1500 jedinců za celou dobu trvání tohoto projektu pokusů.

Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?

Naprostá většina experimentů v tomto projektu pokusů je spojena pouze s prací na izolovaných orgánech a tkáních. Některé pokusy vyžadují tvorbu chimerických myší pomocí přenosu kostní dřeně. Z tohoto důvodu je navrhovaná míra závažnost v rámci projektu pokusů střední. Po skončení pokusu budou zvířata usmrcena pomocí cervikální dislokace nebo CO2. Likvidace kadáverů bude provedena asanační službou, se kterou má pracoviště smlouvu.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Pro specifické studium procesů souvisejících s antigenním transferem v thymu není možné najít vhodnou eticky akceptovatelnou alternativu, která by zároveň splňovala požadavky na genetickou a fyziologickou blízkost člověku. Díky využití myšího modelu jsme schopni přispět k zásadnímu poznání esenciálního procesu pro udržení homeostázy nejen v myším, ale přeneseně i v lidském těle, a tím potenciálně odhalit možné cíle léčby, které jsou předmětem klinického výzkumu. Použití alternativních metod bylo zváženo na základě: <https://norecopa.no/alternatives/alternatives-to-animal-research-and-testing>, <http://www.interniche.org/cs/node/3921>.

Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

Odběr orgánů a tkání stejně tak jako přenos kostní dřeně budou prováděny na co nejmenším počtu jedinců, který bude umožňovat statistické zpracování výsledků (tj. od 6 do 14 jedinců na pokus včetně kontrol). Pokud bude vyhodnoceno za dostatečné použití 6 myší v pokusu včetně kontrol, další

opakování tohoto pokusu nebudou provedeny. Použití chimérických myší umožní mít různě značené radiosenzitivní hematopoietické buňky (příjemci antigenu) a radiorezistentní stromální buňky (dárce antigenu) a tím analyzovat antigenní transfer. Sdílení vzorků a dat získaných v experimentech v rámci tohoto projektu pokusů jak na národní, tak mezinárodní úrovni není plánováno. Bude však vynaložena snaha o sdílení orgánů a tkání mezi pokusy pro zachování co nejmenšího počtu pokusných zvířat.

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.

Naprostá většina použitých modelů představuje modely tkáňově specifických reportérových antigenů, u kterých běžně nedochází k narušení homeostázy či k patologickým procesům. Použití tkáňově specifické delece genů má na rozdíl od jejich delece v celém organismu daleko menší dopad na fyziologii daného modelu. Zvířata budou usmrcena cervikální dislokací. Po důkladném prověření, že zvířata byla usmrcena, budou vyjmuty patřičné orgány. Při experimentech s chimérickými myši bude ověřena míra rekonstituce kostní dřeně a zvířata budou pravidelně kontrolována viz. sekce 9. V případě zjištění jakéhokoliv zhoršení zdravotního stavu či utrpení zvířat, budou tato zvířata neprodleně usmrcena. Pokusy v rámci tohoto projektu pokusů nevyžadují oddělený chov zvířat, pro zlepšení chovných podmínek budou zvířata chována po skupinkách tvořených z tzv. littermates.