

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Produkcja mysich i ewentualnie także szczurzych przeciwciał monoklonalnych z wykorzystaniem technologii hybrydoma.

2. Czas trwania projektu: 5 lat

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): przeciwciała monoklonalne, immunizacja, odpowiedź odpornościowa

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) F

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Celem badań jest produkcja mysich i ewentualnie także szczurzych przeciwciał monoklonalnych specyficznych względem różnych antygenów (białek, peptydów, cukrów pochodzenia eukariotycznego, bakteryjnego lub wirusowego) w oparciu o technologię wykorzystującą komórki hybrydoma. Produkcja przeciwciał monoklonalnych oparta o technologię komórek hybrydoma obejmuje immunizację zwierząt (szczepienie zwierząt wybranymi antygenami, przeciwko któremu planuje się uzyskać przeciwciała), analizę odpowiedzi odpornościowej (badany jest poziom specyficznych przeciwciał we krwi zwierząt) i izolację materiału biologicznego ze zwierząt (pobierana jest krew i śledziona). Wykorzystując komórki pobrane z immunizowanych zwierząt uzyskuje się komórki hybrydoma stabilnie produkujące przeciwciała monoklonalne. Komórki takie jako linia są nieśmiertelne i pozwalają na produkcję

przeciwciał już tylko w oparciu o hodowle *in vitro*. Procedury na zwierzętach stosowane w ramach tych badań obejmują podanie roztworu antygeny i adiuwantu. Adiuwanty są związkami stymulującym odpowiedź odpornościową i powszechnie są stosowane jako komponenty szczepionek lub immunoterapii. Mogą mieć one jednak drażniący wpływ na organizm zwierzęcia. Dlatego też, immunizowane zwierzęta monitoruje się cały czas, pod kątem wystąpienia niepożądanych efektów (mogących świadczyć o indukcji stanu zapalnego).

Przeciwciała monoklonalne, które zostaną uzyskane w wyniku realizacji badań będą wykorzystane jako użyteczne narzędzie badawcze (do badań nowych, unikalnych białek lub peptydów) lub diagnostyczne (w weterynarii do oznaczania np. patogenów w materiale biologicznym pobieranym od zwierząt hodowlanych).

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

100 sztuk - mysz domowa

15 sztuk – szczur wędrowny

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zasada zastąpienia: przeprowadzone procedury i posłużą do uzyskania wielu linii komórek hybrydoma produkujących przeciwciała monoklonalne specyficzne względem różnych antygenów. Metoda ta pozwala na produkcję kompletnych immunoglobulin (całych cząsteczek przeciwciał). Alternatywna metoda produkcji przeciwciał monoklonalnych oparta o wykorzystanie bibliotek fagemydowych i fagów filamentowych pozwala na uzyskanie tylko fragmentów przeciwciał. Dysponując tylko biblioteką ludzkich fragmentów przeciwciał nie można zatem uzyskiwać nawet fragmentów mysich przeciwciał. Fragmenty przeciwciał są monowalentnymi cząsteczkami (wiążą tylko jeden antygen), podczas gdy kompletne przeciwciała produkowane przez komórki hybrydoma są co najmniej diwalentne (mogą wiązać najmniej dwie cząsteczki antygeny, zatem działają bardziej

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

efektywnie w rozpoznawaniu i wiązaniu antygenów). Tylko kompletne przeciwciała mogą być wykorzystane w wielu typach testów diagnostycznych. Technologię opartą o immunizację zwierząt i uzyskiwanie komórek hybrydoma do produkcji przeciwciał stosuje się, kiedy potrzebne są duże ilości kompletnych przeciwciał monoklonalnych. W innych przypadkach, stosowana jest technologia ekspresji fagowej nie wymagająca wykorzystania zwierząt.

Zasada ograniczenia: w badaniach zaplanowano wykorzystanie minimalnej liczby zwierząt niezbędnej do osiągnięcia zamierzonego celu (jakim jest uzyskanie linii komórek hybrydoma produkujących przeciwciała monoklonalne specyficzne względem wybranych antygenów). W oparciu o dotychczasowe doświadczenia zespołu przeprowadzono szacowanie ilości zwierząt potrzebnych do produkcji przeciwciał na najbliższe 5 lat. Minimalizacja liczebności zwierząt jest możliwa dzięki dużemu doświadczeniu eksperymentatorów, optymalnemu procesowi immunizacji antygenami (jest on na tyle łagodny, że niezwykle rzadko obserwuje się jakąkolwiek toksyczność i działanie niepożądane w trakcie przeprowadzania procedur), zastosowaniu ograniczonej ilości zmienności poprzez zapewnienie stałego mikroklimatu w Zwierzętarni czy wykorzystanie zwierząt SPF. Liczba zwierząt jaką zaplanowano do produkcji przeciwciał jest naprawdę już ograniczona (np. dwie myszy na antygen). Bardzo rzadko dochodzi do utraty zwierząt w trakcie immunizacji, zdarza się jednak, że nie udaje się efektywnie unieśmiertelnić pobranych od zwierzęcia limfocytów. W takim przypadku natychmiast można wykorzystać materiał z drugiego szczepionego zwierzęcia i nie trzeba całej procedury szczepienia powtarzać. Stan zdrowia zwierząt w trakcie procedury szczepienia jest dokładnie monitorowany, precyzyjnie oznacza się poziom przeciwciał specyficznych względem antygeny i jak tylko osiąga odpowiedni poziom, procedura szczepienia jest zakończona i przeprowadzana jest eutanazja zwierząt. Organy uśmierconych zwierząt wykorzystywane są do innych celów – przykładowo, izolowana z martwych zwierząt wątroba jest homogenizowana i uzyskany homogenat służy studentom kursu Biochemia jako źródło enzymu glukozy-6-fosfatazy do oznaczeń enzymatycznych.

Zasada udoskonalenia: zwierzęta będą przebywały w bardzo dobrych warunkach, w zwierzętarni o standardzie SPF (ang. *specific pathogen free* - zwierzęta wolne od specyficznych patogenów, występujących u danego gatunku). Zwierzęta mają stały dostęp do wody i paszy, jako wzbogacenie środowiska otrzymają drewniane klocki i materiał do budowania gniazd. Zwierzęta będą utrzymywane grupowo w klatkach – w grupach liczących maksymalnie 5 zwierząt. Przed rozpoczęciem eksperymentu, przez 5 kolejnych dni zwierzęta będą poddane handlingowi i przyzwyczajane do obecności eksperymentatorów, aby minimalizować ich stres. Zastosowane w projekcie metody badawcze są nowoczesne i dostosowane do specyfiki badań.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☒ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.