

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Mreža za obuku u području racionalnog projektiranja nove generacije dobro definiranih cjepiva na bazi glikokonjugata. A training network for the rational design of the next generation of well-defined glycoconjugate vaccines (Glycovax)		
Trajanje projekta	01.11.2015.-31.10.2019.		
Ključne riječi (najviše do 5)	Cjepivo, glikokonjugat, polisaharid, protutijela, obuka		
	Svrha projekta (kao u članku 5. Pravilnika):		
	Temeljno istraživanje	da	ne
	Translacijska i primijenjena istraživanja	da	ne
	Korištenje određeno propisima i rutinska proizvodnja	da	ne
	Zaštita prirodnog okoliša u interesu zdravlja ili dobrobiti čovjeka ili životinje	da	ne
	Očuvanje vrste	da	ne
	Visoko obrazovanje ili osposobljavanje	da	ne
	Forenzička ispitivanja	da	ne
	Održavanje kolonije genetski izmijenjenih životinja koje se ne koriste u drugim postupcima	da	ne
Opišite ciljeve projekta (na primjer, znanstvene nepoznanice ili znanstvene ili kliničke potrebe).	Temeljni cilj projekta Glycovax je stvoriti preduvjete za razvoj nove generacije inovativnih cjepiva na bazi glikokonjugata, kako bi se na taj način poboljšale postojeće preventivne terapije te kako bi se riješile dosad neispunjene medicinske potrebe. Ključni cilj prilikom dizajniranja novih cjepiva na bakterijske antigene (polisaharide) je indukcija visokog titra protutijela koja prepoznaju native polisaharide i u mogućnosti su opsonizirati patogene. Ključna prepreka prilikom dizajniranja odgovarajućih antigena za imunizaciju je dobivanje čistih i homogenih gliko-pripravaka. Osim same sinteze, zahtjevan je i sam postupak njihove konjugacije za nosače, koji mora osiguravati konjugaciju na točno određenim dijelovima gliko-okosnice (<i>site-selective conjugation</i>). Sama konjugacija je nužan korak koji prethodi dobivanju antigena sposobnih izazvati memorijski imunološki odgovor. Ove izazove preuzet će naši partneri u međunarodnom projektnom konzorciju. U okviru predloženog projekta, Medicinski fakultet u Rijeci (MEDRI) će razviti mišja monoklonska protutijela na nekoliko polisaharida, uključujući kapsularne polisaharide tipa II. Ono što je jako slabo poznato su determinante koje određuju protektivni odgovor tijela na konjugirani gliko-antigen. Do sada je dobivanje optimalnog odgovora bilo prepušteno metodi pokušaja i pogreške, a poznato je da je jedan od ključnih čimbenika sama dužina antigena te da za uspješnost obrane od bakterija nije dovoljno da protutijelo prepozna bilo koji epitop na polisaharidu bakterije. Cilj MEDRI-a, u sklopu ovoga projekta, je identificirati ne samo najbolje antigene, već i razloge zbog kojih su upravo oni tako uspješni. Cilj je dobiti imunološki odgovor koji posjeduje dovoljno visok titar protutijela koja prepoznaju protektivne epitope na polisaharide bakterija, a istovremeno minimizirati broj protutijela koja prepoznaju neučinkovite epitope, kako bi se izbjeglo iscrpljivanje imunološkog sustava. Za to nam je nužno potrebno usporedno pratiti titar protutijela po imunološkom odgovoru miša na vrhunski dizajnirane antigene različite veličine i/ili drugih karakteristika, a koje će nam dostaviti naši projektni partneri.		
Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (kako znanost može biti unaprijeđena ili kako ljudi ili životinje	Očekivani rezultati MEDRI-a u projektu su produkcija i karakterizacija protutijela na bakterijske antigene te određivanje determinanti imunogeničnosti antigena za native polisaharide bakterija. Očekivani rezultati projekta su nova saznanja i razvoj		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

<i>moгу imati koristi od projekta).</i>	cjepiva na relevantne patogene današnjice. Modelni patogeni na čije se produkte namjeravaju stvoriti protutijela su <i>Neisseria meningitidis</i> i/ili group B streptococci i/ili enterococci i/ili <i>staphylococcus aureus</i>. U fokusu projekta je i edukacija znanstvenika kroz organizaciju radionica, mentorstava i razmjene znanja, čime se doprinosi stvaranju kritične mase znanstvenika koja će biti sposobna promišljati nove izazove razvoja cjepiva koji su pred današnjim društvom.
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	U sklopu projekta predviđeno je istraživanje na laboratorijskim miševima sukladno važećim propisima za rad s eksperimentalnim životinjama. U istraživanju će se koristiti BALB/c miševi. Približan broj miševa koji se planiraju koristiti u istraživanju je 40.
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Životinje će se koristiti za imunizaciju te kao izvor slezene za razvoj hibridomskih staničnih linija koje luče protutijela te će biti potkožno i intraperitonealno imunizirane pročišćenim glikokonjugatima - antigenima. Uspješnost imunizacije utvrdit će se vadeњem krvi iz repne vene (količina krvi manja od 10% ukupnog volumena krvi). Tijekom pokusa životinje će biti smještene u specijalnim individualno ventilirajućim kavezima (individually ventilated cages, IVC). Očekivana razina težine postupka je blaga. Životinje će po injiciranju biti praćene na znakove nelagode ili stresa (što nije očekivano u planiranom istraživanju) te će u slučaju istih životinje biti usmrćene na human način. Na kraju pokusa životinje će biti usmrćene na human način, a njihove slezene iskorištene za razvoj hibridoma.
Primjena načela 3R	
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	Cjelokupni proces stvaranja nove generacije dobro definiranih i inovativnih cjepiva na bazi glikokonjugata uključuje razvoj mišjih monoklonskih protutijela. Međutim, u ovom projektu cilj nije isključivo dobivanje finalnog produkta, pročišćenog i imobiliziranog monoklonskog protutijela, već i procjenjivanje titra protektivnih protutijela prilikom imunološkog odgovora na antigen. Nadalje, cilj je određivanje tipa i omjera protutijela koje imunološki odgovor daje na antigene definirane razlike (npr. postupka gliko-konjugacije, broja gliko-jedinica ili završnog ogranka gliko-konjugata). Stoga, životinje će se koristiti s obzirom da ne postoji alternativna metoda koja bi odgovarala zahtjevima za analizu titra protutijela prilikom kompletnog imunološkog odgovora te za produkciju konvencionalnih monoklonskih protutijela, koja su opet jedinstvena po svojoj sposobnosti glikozilacije (dorade šećera), a što je značajan čimbenik prilikom stvaranja protutijela na same šećere.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	Broj korištenih životinja po antigenu bit će reduciran na minimum putem osiguravanja najviše moguće kvalitete antigena za imunizaciju miševa. Također, ukoliko imunizacija specifičnim antigenom ne rezultira pozitivnim imunološkim odgovorom i/ili monoklonskim protutijelom u tri uzastopna pokušaja dobivanja hibridoma (tzv. fuzije), usprkos činjenici da su svaki put proizvedeni značajno drugačiji pripravnici antigena, proizvodnja protutijela na dotični ciljni antigen će se u potpunosti obustaviti.
3. Pобољшanje Objasniti izbor vrsta i zašto su korišćeni životinjski modeli primjereniji od drugih, uzimajući u obzir znanstvene ciljeve. Objasniti opće mjere koje će se poduzeti kako bi se smanjile štete za životinje.	Imunološki sustav laboratorijskih životinja, a u našem slučaju koristit će se miševi, nema alternativu kada je u pitanju proizvodnja širokog spektra konvencionalnih monoklonskih protutijela. Navedeno pogotovo nema alternativu kada je, u svrhu razvoja optimalnih protektivnih antigena za cjepiva, potrebno pratiti ukupan odgovor imunološkog sustava na te antigene. Naime, poznato je da na razvoj B-limfocita koji luče protektivna protutijela na glikokonjugate veliku ulogu imaju limfociti T i druge komponente imunološkog sustava. Na taj način fenomen nije moguće pratiti u izolaciji, a laboratorijski miševi su danas najrasprostranjeniji i najviše prihvaćen animalni model, koji je uz najviše standarde uključen i u istraživanja na Medicinskom fakultetu u Rijeci. Životinje će po injiciranju biti praćene na znakove nelagode ili stresa (što nije očekivano u

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

	planiranom istraživanju) te će u slučaju istih životinje biti usmrćene na human način.
--	--