

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Robusne i adaptabilne biološke platforme za nova cjepiva		
Trajanje projekta	ožujak 2019. – prosinac 2022.		
Ključne riječi (najviše do 3)	nanočestice, virusu slične čestice, virus, cjepivo		
	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, znanstveni nepoznanice ili znanstvene ili kliničke potrebe).	Ovim projektom predlažemo razvoj dva nova oblika cjepiva, odnosno stvaranje nanoplatforami temeljenih na rekombinantnom proteinu i virusu humane parainflucence tipa 2 (HPIV2) koje će biti prilagodljivi neinfektivni nosači antigenskih determinanti drugih patogenih virusa: nanočestice nukleoproteina i HPIV2 slične čestice (VLP, virus like particles). Umjesto empirijskog pristupa kakav je prakurciran u razvoju postojećih cjepiva, primijenit ćemo racionalni dizajn. Multidisciplinarnim pristupom ćemo kombinacijom suvremenih računalnih i molekularnih metoda te metoda spektrometrije masa ispitati složene 3D strukture i dinamičke odnose unutar velikog broja dizajniranih i stvaranih biomolekula i njihovih oligomera kao potencijalnih kandidata za aktivnu tvar novog cjepiva. Na taj način selektirat ćemo kandidate koji će svojim karakteristikama biti najbliži autentičnom antigenu, te time smanjiti broj potencijalnih kandidata na jedan do dva čime se znatno umanjuju troškovi daljnjih testiranja i broj pokusnih životinja na kojima će se testirati potencijalni kandidati. Nakon imunizacije pokusnih životinja s odabranim potencijalnim kandidatima uz klasične metode analize humoralnog i staničnog odgovora na imunizaciju, uslijedit će dubinska analiza kvalitete imunološkog odgovora i usporedba s imunološkim odgovorom na pojedini originalni virus. Na taj način će se odrediti točno mjesto i kvaliteta interakcije u nekovalentnom kompleksu antigen-antitijelo, a metodom "whole cell mass spectrometry" odredit će se proteomski otisak naivnih i aktiviranih T stanica nakon imunizacije.		
Keje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (kako znanost može biti naprednija ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta).	Unatoč uspješnom razvoju cjepiva protiv nekih virusa, velik broj virusnih bolesti ostaje bez mogućnosti prevencije cijepljenjem unatoč višegodišnjim pokušajima razvoja cjepiva na tradicionalni način. Razvoj novih cjepiva i njihov ulazak u primjenu je dugotrajan (ca. 12-15 godina), kompleksan i skup proces koji mora zadovoljiti stroge zahtjeve regulatornih tijela. Sve to je značajan motivacijski faktor za inovacije i istraživanje novih oblika cjepiva koja imaju perspektivu biti sigurna, efikasna, fleksibilna u smislu modifikacija s obzirom na farmakovigilanciju i promjene samog patogena na terenu pa čak i na vrlo brzu prilagodbu drugim, novim, emergentnim ili reemergentnim patogenima. Ovim značajno ćemo planirano dizajnirati nove oblike cjepiva protiv bolesti za koje cjepiva nisu dostupna, a liječenje je onemogućeno i skupo (RSV i HCV) ili bi novi oblik cjepiva bio bolji u odnosu na postojeći ospice, gripu jer bi bio sigurniji i lakše prilagodljiv antigenima promjenama.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	- miš - broj životinja: 288		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna i očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Životinje se podvrgavaju blagom i neagresivnom postupku imunizacije (s.c. ili i.n.) u fiziološkim uvjetima, i u volumenima propisanim za s.c. ili i.n. primjenu vodenih pripravaka, a izlaganje infektivnom agensu provodi se i.n. apliciranjem u fiziološkim uvjetima i u volumenima propisanim za i.n. primjenu vodenih pripravaka. Intervencija na životinji nije veća od uboda igle. Pokusi testiranja imunogeničnosti klasificiraju se kao umjereni. Pokusi testiranja <i>in vivo</i> zaštite nakon imunizacije izlaganjem infektivnom agensu klasificiraju se kao teški s obzirom da izlaganje patogenu može trajno oštetiti stanje životinje i uzrokovati progresivnu bolest povezanu s oštećenjem fiziološkog stanja organizma. Po svom završetku svih navedenih pokusa životinje žrtvuju radi uzimanja tkiva i/ili organa (krvi, slezene, pluća) za daljnje <i>in vitro</i> analize. Ako je zbog primjene virusne suspenzije došlo do izazivanja težih patofizioloških promjena koje se reflektiraju u ponašanju i izgledu životinja, one se isključuju iz testiranja prije predviđenog završetka testa prema procjeni razvoja težine kliničke slike.
Primjena načela 3R	
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	Ispitivanje ima za cilj stvaranje imunološkog odgovora na testirane nove oblike cjepiva što je moguće postići jedino u <i>in vivo</i> uvjetima. Zbog toga nije moguća zamjena životinja modelima izoliranih organa, komputorskim simulacijama ili drugim metodama. Učinkovitost stvorenog imunološkog odgovora bit će testirana djelomično <i>in vitro</i>, ali zbog biološke kompleksnosti imunološkog sustava nemoguće je točno procijeniti učinkovitost imunološkog odgovora koristeći samo <i>in vitro</i> tehnike, nego je potrebno napraviti <i>in vivo</i> izlaganje infektivnom agensu.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	Za svaki pokus koristit će se minimalni broj životinja koji daje prihvatljivu statističku snagu, temeljem prethodnih istraživanja. Na taj način osigurava se korištenje minimalnog broja životinja koji jamči snagu studije i pouzdanost dobivenih rezultata, a bez potrebe za ponavljanjem pokusa. Kako bi se smanjio broj životinja korištenih u kontrolnim skupinama, pokusi će se spajati za različite pripravke, kada god će to biti moguće.
3. Poboljšanje Objasniti izbor vrsta i zašto su korišteni životinjski modeli primjereniji od drugih, uzimajući u obzir znanstvene ciljeve. Objasniti opće mjere koje će se poduzeti kako bi se smanjile štete za životinje.	Životinjama će se osigurati svi potrebni uvjeti okoliša: propisana stalna temperatura i dovoljna veličina kaveza, propisana stalna vlažnost i protok zraka, ciklus izmjene svjetla i tame 12h/12h u skladu s važećim propisima. Prije samog ulaska u pokus životinje će se navikavati na manipulaciju radi umanjenja stresa. Voda i hrana unutar pokusa će im biti ponudena <i>ad libitum</i> i pokus ni u kojem svom dijelu ne predviđa suzdržanje hrane i vode (osim hrane nekoliko sati prije uvođenja u duboku anesteziju). Pri provođenju postupaka posebna se pažnja pridaje maksimalnom izbjegavanju patnje pokusnih životinja pažljivim rukovanjem, izbjegavanjem bolnih manipulacija i svih oblika stresa koliko to dopuštaju ciljevi ispitivanja.