

OBRAZAC 3

|                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                       |    |    |                                           |    |    |                                                      |    |    |                                                                                   |    |    |                |    |    |                                        |    |    |                        |    |    |                                                                                            |    |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|----|----|-------------------------------------------|----|----|------------------------------------------------------|----|----|-----------------------------------------------------------------------------------|----|----|----------------|----|----|----------------------------------------|----|----|------------------------|----|----|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|----|
| Naslov projekta                                                                                                                                                                       | Novi pristup razvoju cjepiva za kongenitalnu citomegalovirusnu infekciju                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                       |    |    |                                           |    |    |                                                      |    |    |                                                                                   |    |    |                |    |    |                                        |    |    |                        |    |    |                                                                                            |    |    |
| Trajanje projekta                                                                                                                                                                     | 01.08.2018.-30.11.2022.<br>Pokusi koji uključuju laboratorijske životinje provodit će se od 01.08.2018., odnosno od datuma izdavanja odobrenja ukoliko odobrenje bude izdano poslije 01.08.2018.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                       |    |    |                                           |    |    |                                                      |    |    |                                                                                   |    |    |                |    |    |                                        |    |    |                        |    |    |                                                                                            |    |    |
| Ključne riječi (najviše do 5)                                                                                                                                                         | citomegalovirus, kongenitalna infekcija, CD8 limfociti T                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                       |    |    |                                           |    |    |                                                      |    |    |                                                                                   |    |    |                |    |    |                                        |    |    |                        |    |    |                                                                                            |    |    |
|                                                                                                                                                                                       | Svrha projekta (kao u članku 5. Pravilnika):                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                       |    |    |                                           |    |    |                                                      |    |    |                                                                                   |    |    |                |    |    |                                        |    |    |                        |    |    |                                                                                            |    |    |
|                                                                                                                                                                                       | <table border="1"> <tr> <td>Temeljno istraživanje</td><td>da</td><td>ne</td></tr> <tr> <td>Translacijska i primijenjena istraživanja</td><td>da</td><td>ne</td></tr> <tr> <td>Korištenje određeno propisima i rutinska proizvodnja</td><td>da</td><td>ne</td></tr> <tr> <td>Zaštita prirodnog okoliša u interesu zdravlja ili dobrobiti čovjeka ili životinje</td><td>da</td><td>ne</td></tr> <tr> <td>Očuvanje vrste</td><td>da</td><td>ne</td></tr> <tr> <td>Visoko obrazovanje ili osposobljavanje</td><td>da</td><td>ne</td></tr> <tr> <td>Forenzička ispitivanja</td><td>da</td><td>ne</td></tr> <tr> <td>Održavanje kolonije genetski izmijenjenih životinja koje se ne koriste u drugim postupcima</td><td>da</td><td>ne</td></tr> </table>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 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 |
| 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).                                                                                    | Osnovna ideja projekta jest da citomegalovirus (CMV) koji ispoljava ligand za receptor NKG2D može biti korišten kao cjepivo za prevenciju patoloških i funkcionalnih promjena udruženih s kongenitalnom infekcijom CMV-om. U nastojanju da dizajniramo učinkovitije CMV cjepivo, kombinirati ćemo dva pristupa: deleciju virusnih imunosubverzivnih gena i inserciju u virusni genom gena koji kodiraju ligande za aktivacijske imune receptore. Na mišjem modelu istraživati će se imunogeničnost, protektivni kapaciteta i sigurnost primjene rekombinantnih mišjih CMV-a (MCMV) koji ispoljavaju NKG2D ligande. Ispitati će se replikacija ovih virusa u odraslim i novooslobođenim životinjama, odrediti ulogu pojedinih populacija imunoloških stanica u njihovoj kontroli te karakterizirati odgovor imunoloških stanica na infekciju ovim virusima. Kod neonatalno inficiranih miševa istražiti će se uzrokuju li rekombinantni virusi koji ispoljavaju NKG2D ligande razvojne abnormalnosti maloga mozga te upalne promjene u CNS-u. Također ispitati će se protektivni kapacitet memorijskih CD8 limfocita T i virus-specifičnih protutijela nakon imunizacije životinja s rekombinantnim MCMV koji ispoljavaju NKG2D ligande. |                       |    |    |                                           |    |    |                                                      |    |    |                                                                                   |    |    |                |    |    |                                        |    |    |                        |    |    |                                                                                            |    |    |
| Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (kako znanost može biti unaprijeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta). | Očekuje se da će rezultati ovog istraživanja na mišjem modelu pokazati da su rekombinantni MCMV koji ispoljavaju ligande za receptor NKG2D sigurni za primjenu, a istovremeno imunogenični i protektivni. Korištenje ovakvog pristupa u kreiranju cjepiva za humani CMV (HCMV) moglo bi biti od velike važnosti u borbi protiv ovog virusa koji je najčešći virusni uzročnik kongenitalne infekcije ljudi te koji uzrokuje teške razvojne malformacije, a za kojega još ne postoji učinkovito cjepivo.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                       |    |    |                                           |    |    |                                                      |    |    |                                                                                   |    |    |                |    |    |                                        |    |    |                        |    |    |                                                                                            |    |    |
| Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.                                                                                                                  | U istraživanju će se koristiti laboratorijski miševi. Približan broj miševa koji se planiraju koristiti u istraživanju tijekom trajanja projekta je 2995.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                       |    |    |                                           |    |    |                                                      |    |    |                                                                                   |    |    |                |    |    |                                        |    |    |                        |    |    |                                                                                            |    |    |
| U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?                   | Očekuje se da životinje mogu osjetiti tek prolaznu blagu nelagodu neposredno nakon injiciranja. Doza MCMV-a koja će se koristiti ne bi trebala izazvati simptome bolesti kod životinja. Dužina korištenja pojedinih životinja ovisit će o protokolu pokusa, te će sukladno tome pojedini miševi biti eutanazirani nekoliko dana po infekciji, a pojedini miševi nekoliko tjedana ili mjeseci po infekciji. U pokusima umjerene težine životinje će se svakodnevno pratiti te će se ukoliko je nužno eutanazirati na humani način (sukladno tablici točke 4.11.5 obrasca 2). U pokusima koji uključuju novooslobođene miševe, virus će se injicirati                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                       |    |    |                                           |    |    |                                                      |    |    |                                                                                   |    |    |                |    |    |                                        |    |    |                        |    |    |                                                                                            |    |    |

Ministarstvo poljoprivrede  
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

|                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                                                                                                                          | intraperitonealno, pri čemu životinje mogu osjetiti tek prolaznu blagu nelagodu. Redovito ćemo pratiti zdravstveno stanje životinja te ukoliko se kod pojedine životinje tijekom pokusa primijete nepredviđani problemi životinja će biti usmrćena na human način (HEP).                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>Primjena načela 3R</b>                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>1. Zamjena</b><br>Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.                                                                                         | Životinje će se koristiti s obzirom da ne postoji alternativna metoda za istraživanje MCMV-a i HCMV-a, odnosno infekcije ovim virusima, koja bi bila zasnovana na modelu staničnih kultura. Citomegalovirusi su specifični za vrstu, a infekcija miševa MCMV-om je najčešće korišten model za izučavanje HCMV infekcije, s obzirom na veliku sličnost MCMV-a i HCMV-a u imunobiologiji i patogenezi. Ovaj model omogućuje nam istraživanje složenih interakcija virusa s komponentama imunološkog sustava domaćina te organizma kao cjeline. |
| <b>2. Smanjenje</b><br>Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.                                                                                                                                         | U grupama životinjama uključenim u istraživanje koristit će se najmanji mogući broj životinja koji omogućava dobivanje statistički relevantnih podataka. Iz svakog pokusa nastojat će se dobiti što veća količina informacija.                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>3. Poboljšanje</b><br>Objasniti izbor vrsta i zašto su korišteni životinjski modeli primjereniji od drugih, uzimajući u obzir znanstvene ciljeve.<br>Objasniti opće mjere koje će se poduzeti kako bi se smanjile štete za životinje. | Životinje će po injiciranju biti praćene na znakove nelagode ili stresa koji su jači od predviđenih sukladno tablici u točki 4.11.5 (obrasca 2), te u slučaju potrebe biti usmrćene na human način. Tijekom pokusa životinje će biti smještene u grupama u kavezima smještenim u IVC sustave sa obogaćenim okolišem. Novookoćeni miševi biti će smješteni u leglima sa majkama. Na kraju pokusa životinje će biti eutanazirane na human način. U planiranom istraživanju očekivana razina težine postupaka je blaga do umjerena.             |