

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Jačanje kapaciteta CerVirVac-a za istraživanja u virusnoj imunologiji i vakcinologiji, KK.01.1.1.01.0006; Radni paket 1: Analiza do sad nepoznatih transkripata MCMV-a te nove funkcije poznatih gena ovog virusa		
Trajanje projekta	01.10.2017.-30.09.2022.		
Ključne riječi (najviše do 5)	Citomegalovirus, infekcija, M116, mononuklearni fagociti, latencija		
	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).	Specifični cilj projekta je istražiti funkcionalne karakteristike regije M116 mišjeg citomegalovirusa korištenjem modela infekcije miševa mišjim citomegalovirusom (MCMV), koji je jedan od najčešće korištenih modelnih virusa za istraživanje biologije i patogeneze citomegalovirusa. Budući da smo do sada <i>in vitro</i> eksperimentima okarakterizirali transkripte regije M116, identificirali protein M116 te pokazali da je rekombinantni MCMV s delecijom regije M116 (Δ M116-MCMV) značajno atenuiran u mononuklearnim fagocitima koji se smatraju glavnim mjestima latencije citomegalovirusa, smatramo da je za bolje razumijevanje patogeneze, biologije i perzistencije CMV-a važno istražiti ponašanje ovog virusa <i>in vivo</i> . Iz tog ćemo razloga analizirati replikaciju, fenotip, razine proupalnih citokina i ulogu pojedinih populacija imunoloških stanica u infekciji Δ M116-MCMV virusom u odnosu na WT-MCMV koristeći različite rute infekcije u odraslim miševima. Također, odrediti ćemo replikaciju i fenotip različitih populacija imunoloških stanica u infekciji Δ M116-MCMV virusom u odnosu na WT-MCMV u novooakočenim životinjama te testirati sposobnost reaktivacije Δ M116-MCMV virusa iz latencije u odnosu na WT-MCMV.		
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 razjasniti ulogu regije M116 MCMV-a u infekciji miševa. M116 je pozicionalni, a potencijalno i funkcionalni homolog UL116 humanog citomegalovirusa te stoga ovo istraživanje ima potencijal translacijskog istraživanja na humani CMV. Dodatno, s obzirom na dosadašnje rezultate smatramo da je Δ M116-MCMV zanimljiv kao model za istraživanje i razvoj vakcina baziranih na citomegalovirusu kao i model za istraživanje uloge makrofaga i dendritičkih stanica u širenju i perzistenciji MCMV-a.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	U istraživanju će se koristiti laboratorijski miševi. Predviđeni broj miševa koji se planiraju koristiti u istraživanju tijekom navedenog razdoblja trajanja istraživanja je 1140.		
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Očekivana razina težine postupaka je BLAGA za svih 1140 miševa. Očekuje se da životinje mogu osjetiti tek prolaznu blagu nelagodu prilikom ustrcavanja virusa i protutijela/agensa. Sama infekcija mišjim citomegalovirusom, koji je prirodni patogen miševa, neće izazvati više od blage nelagode, a 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		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

	nekoliko tjedana ili mjeseci po infekciji. Ako se kod pojedine životinje primijete problemi sa zdravljem, stres ili nelagoda koji su jači od predviđenih bez brzog oporavka, gubitak tjelesne težine veći od 20%, životinja će biti usmrćena na human način.
Primjena načela 3R	
1. Zamjena 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 (infekcije i kompleksnih interakcija komponenti imunološkog sustava), 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 te organizma kao cjeline.
2. Smanjenje 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.
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.	U planiranom istraživanju očekivana razina težine postupaka je BLAGA za svih 1140 životinja. Životinje će po injiciranju biti praćene na znakove nelagode ili stresa koji su jači od predviđenih sukladno obrascu 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.