

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Istraživanje molekularnih i funkcionalnih svojstava glavnih regulatora aktivnosti stanica NK		
Trajanje projekta	60 mjeseci		
Ključne riječi (najviše do 5)	CD16, NCR1, NKG2D, stanice NK		
	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).	Glavni cilj projekta je istražiti: Trebaju li stanice NK 'glavni aktivacijski signal' preko NKG2D, NCR1 ili CD16 kako bi postigle maksimalnu reaktivnost? Ovaj projekt se može podijeliti na 3 istraživačka pod cilja: 1) Istražiti kako nedostatak 'glavnog aktivacijskog signala' utječe na efektorske funkcije stanica NK 2) Istražiti kako nedostatak 'glavnog aktivacijskog signala' utječe na prijenos signala u stanicama NK nakon stimulacije aktivacijskih receptora 3) Istražiti kako nedostatak 'glavnog aktivacijskog signala' utječe na razvoj, preživljenje i proliferaciju stanica NK		
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).	Stanice NK su snažno stanično oružje za borbu protiv tumora, ali jedna od najvećih prepreka u njihovom korištenju u terapijske svrhe je nepotpuno razumijevanje njihove aktivacije. Iako su u fokusu istraživanja već preko 30 godina još uvijek nije razjašnjen molekularni mehanizam zbog kojeg su djelotvorne prema određenim tumorskim stanicama dok prema drugima nisu. Rezultati dobiveni ovim istraživanjem omogućit će bolje razumijevanje biologije stanica NK kao i uloge ovih triju važnih aktivacijskih receptora (NCR1, NKG2D, CD16). Planiramo odgovoriti na važna i nerazjašnjena pitanja o regulaciji aktivacije stanica NK. Bolje razumijevanje ovoga složenog procesa otvara mogućnost njegove manipulacije te razvoja učinkovitije NK ovisne imunoterapije tumora.		
Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti	Naš glavni model istraživanja bit će mišji model, te predviđamo da ćemo u periodu od 5 godina, koliko traje projekt, koristiti ukupno 2480 miševa od kojih za BLAGE pokuse 560, za UMJERENE 960 i za TEŠKE pokuse 960 životinja.		
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinje, vjerojatna očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Većina predviđenih eksperimenata spada u blage eksperimente pošto će se životinje žrtvovati radi uzimanja organa i analize stanica NK. Dio životinja biti će inficiran MCMV-om te, u nekim pokusima, injiciran monoklonskim protutijelima, kako bi se depletirali određeni tipovi imunih stanica. U takvim pokusima životinje će osjetiti samo blagu bol prilikom procesa injiciranja virusa i/ili monoklonskih protutijela. U određenim		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarsko i sigurnosno poslovanje

	vremenskim periodima nakon infekcije eksperimentalni miševi bit će usmrćeni, a njihovi organi, stanica ili tkiva analizirani. Također jednom dijelu životinja injicirati će se B16 tumori i.v. ili s.c. te će se pratiti preživljenje životinja ili rast tumora. Životinje će se pratiti svakodnevno te ukoliko se primjete 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	Zbog složenosti istraživanja u kojemu želimo ispitati ulogu 3 važna aktivacijska receptora (NCR1, NKG2D i CD16) na razvoj, efektorske funkcije te signaliranje stanica NK nažalost ne postoji adekvatna alternativa korištenju animalnog modela. <i>In vitro</i> manipulacija stanica NK je poprilično zahtjevna te ne postoje stanične linije koje dostojno zamjenjuju i obuhvaćaju sve aspekte normalne biologije stanica NK. Stoga, kako bismo istražili ulogu navedena tri aktivacijska receptora u biologiji stanica NK koristit ćemo miševe kojima nedostaje izražaj jednog, dva ili sva tri navedena aktivacijska receptora.
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. Pобољшanje 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.	Imunološki sustav je složen sustav koji obuhvaća veliki broj staničnih populacija, njihovu međusobnu interakciju, kao i interakciju imunoloških stanica sa drugim stanicama u organizmu. Korištenje miševa kao animalnog model omogućava nam širok spektar tehnika i oruđa kojima ćemo biti u mogućnosti što preciznije odgovoriti na naša znanstvena pitanja. Koristeći genetički modificirane sojeve moći ćemo vidjeti kako delecija NKG2D, NCR1 i CD16 izražaja utječe na fenotip i funkciju stanica NK. U dijelu istraživanja u kojem ispitujemo kako nedostatak jednog ili više regulatora aktivnosti stanica NK utječe na kontrolu tumora zbog složenosti procesa koji se istražuje nije moguće koristiti alternativne metode. Životinjama će tijekom svih eksperimenata biti praćeni znakovi nelagode ili stresa te će u slučaju istih životinje biti usmrćene na human način. Općenito, očekuje se da će dio životinja osjetiti BLAGU dok će dio životinja osjetiti umjerenu nelagodu te će biti usmrćene ako problemi sa zdravljem ih dobrobiti prerastu tu razinu. Tijekom pokusa životinje će biti smještene u grupama u individualno ventiliranim kavezima (engl. Individually ventilated cages, IVC) sa obogaćenim okolišem. Novorođeni miševi biti će smješteni u leglima sa majkama. Na kraju pokusa životinje će biti eutanazirane na human način.
Potrebna retroaktivna procjena projekta (upisuje nadležno tijelo)	da ne
Rezultat retroaktivne procjene projekta (upisuje nadležno tijelo)	