

Netehniskā kopsavilkuma veidne

Projekta nosaukums	Poliklonālo antivielu iegūšana pret peļu ogļskābes anhidrāzi IX
Projekta ilgums	5 gadi
Pētījuma atslēgas vārdi	Truši, poliklonālas antivielas, imunizācija, anestēzija
Projekta mērķi(s)	<input type="checkbox"/> Fundamentālie, jeb pamatpētījumi <input checked="" type="checkbox"/> Praktisks vai lietišķs pētījums, kura nolūks ir: <i>nepieļaut, novērst, diagnosticēt vai ārstēt cilvēku un dzīvnieku vai augu slimības, veselības traucējumus vai to izraisīto ietekmi; novērtēt, noteikt, regulēt vai mainīt cilvēka, dzīvnieku vai augu fizioloģisko stāvokli; nodrošināt dzīvnieku labturību, uzlabot dzīvnieku turēšanu;</i> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Zāļu, pārtikas, barības u.c. vielu vai produktu izstrāde, ražošana vai kvalitātes, efektivitātes un drošības pārbaude <input type="checkbox"/> Dabiskās vides aizsardzība cilvēka vai dzīvnieku veselības vai labklājības interesēs <input type="checkbox"/> Pētījumi, kuru nolūks ir saglabāt dzīvnieku sugu <input type="checkbox"/> Augstākā izglītība vai apmācība, kuras nolūks ir iegūt, uzturēt vai uzlabot arodprasmes <input type="checkbox"/> Tiesu medicīniskā ekspertīze
Projekta mērķa/u pamatojums, apraksts un novitāte	<p>Projekta mērķis ir iegūt specifiskas trušu anti-peļu poliklonālas antivielas preparatīvos daudzumos pret peļu ogļskābes anhidrāzi IX (CA9) proteīnu vai tā modifikācijām.</p> <p>CA9 ir šūnas membrānā integrēts enzīms, kas katalizē oglekļa dioksīda hidratācijas reakciju. Tas tiek dabiski ekspresēts tikai dažos veselos audos piem., zarnu, kuņģa gļotādā, žultspūslī. Audzējos tas tiek ievērojami pārproducēts un veicina vēža šūnu migrāciju. Augsta CA9 ekspresija krūts vēža audos ir saistīta ar augstāku metastāžu risku un zemāku dzīvā organisma dzīvildzi.</p> <p>Iegūtās antivielas nodrošinās iespēju laboratorijas apstākļos atlasīt peļu krūts vēža šūnu modificētas līnijas <i>in vitro</i>. Projekta novitāte ir iegūto antivielu specifiskums pret krūts vēža atšķirīgām modificētām līnijām, kuras tālāk tiks izmantotas audzējsūnu procesu izpētei, raksturošanai <i>in vitro</i> (arī <i>in vivo</i>), kā arī jaunu pretvēža zāļu, vakcīnu izstrādei un pārbaudei, izmantojot mūsdienīgas biotehnoloģijas metodes un testus.</p>
Ieguvumi no projekta realizācijas	Izmēģinājuma projekta iegūtās trušu anti-peļu antivielas

	<p>specifiski atpazīs un dos iespēju atlasīt jaunās perspektīvās krūts vēža modificētās šūnu līnijas (arī jaunsintezētus proteīnus), kuras turpmāk tiks izmantotas terapeitiskās vakcīnas pārbaudēs pret metastātiskiem audzējiem. Tādējādi, šīs poliklonālās antivielas tiks izmantotas daudzos atšķirīgos, zinātnisko mērķu un pamatoto ideju sasniegšanai nepieciešamos, biotehnoloģiskos un imunoloģiskos testos ilgākā laika periodā (vairākus gadus).</p>
Projektā izmantojamo dzīvnieku suga(s) un plānotais dzīvnieku skaits	Truši (<i>Oryctolagus cuniculus</i>); trušu skaits- 8
Sagaidāmais kaitējums dzīvniekiem	<p>Procedūra ietver trīs galvenās manipulācijas ar trušiem - imunizāciju ar proteīnu CA9, tā modifikācijām.</p> <p>Smaguma pakāpe- viegla (vielu ievadīšana zemādā).</p> <p>- mazu tilpumu asins seruma paraugu iegūšana no trušiem.</p> <p>Smaguma pakāpe- viegla (tiek ņemts ierobežota skaita asins paraugi ar mazāk kā 10% cirkulācijas tilpuma).</p> <p>- anestēzijas ievadīšana pirms totālā asins parauga noņemšanas dzīvniekiem.</p> <p>Smaguma pakāpe- viegla (anestēzijas ievadīšana muskulī).</p> <p>Sagaidāms, ka visas uzskaitītās manipulācijas dzīvniekiem būs viegli panesamas, un tie nejutīs ne sāpes, ne ilgstošu stresu. Injicējamais proteīns nav toksisks, tas ir sterils, ievadāmais materiāla tilpums ir mazs (0.2ml). Dzīvnieki eksperimentā tiks turēti maksimāli 84 dienas. Eksperimentam beidzoties tie tiks ievadīti dziļā, stabilā narkozē un tiks veikta totālo asins paraugu noņemšana; truši tiks humāni eitanazēti.</p>
3Rs piemērošana un integrēšana pētījumā Aizvietošana - Refinement	<p>Specifiskas antivielas pret CA9 ir pieejamas komerciāli, tomēr šādas antivielas (monoklonālas, bez jebkādam modifikācijām, standarta), to šaurā specifiskuma dēļ, nav piemērotas mūsu zinātniskajiem mērķiem. Pieteiktais pētījuma projekts vērsts uz pilnīgi jaunu, inovatīvu, modificētu un zinātniski pamatotu proteīna izmantošanu pētniecībā.</p> <p>Lai iegūtu antivielas pret noteiktu olbaltumvielu, alternatīvu metožu, kā tikai izmantojot laboratorijas dzīvniekus <i>in vivo</i>, pasaulē joprojām vēl nav atrastas. Tam par iemeslu ir neapstrīdams fakts, ka specifiskas antivielas ir dzīva organisma dažādu un atšķirīgu imunošūnu reakciju kaskādes galaprodukts. Tādēļ zinātniskās institūcijas spiestas antivielas iegūt paši, ko veic sertificēti speciālisti darbam ar laboratorijas dzīvniekiem, vai tās iegādājas (pasūta) to ražošanas centros. Tomēr, pasūtot poliklonālās antivielas komerciāli, tas būtu ilgstošs un dārgs process. Svarīgi, ka arī farmācijas vai biotehnoloģijas kompānijas antivielu produkcijai tāpat izmantotu dzīvniekus. Izmēģinājuma projektā plānotajā imunizācijas eksperimentā tiks izmantoti proteīni, kuri ir iegūti eikariotiskajā ekspresijas sistēmā, tie strukturāli atbilst</p>

	<p>natīvajam proteīnam. Proteīnu struktūrā ir iekļautas papildus izmaiņas piem., ievietoti linkeri (sasaistes, kas nodrošina struktūras stabilitāti) un sekvenču modifikācijas paaugstinot iegūtā proteīna antigenitātes, imunogenitātes īpašības.</p>
<p>Samazinājums - Reduction</p>	<p>Sakarā ar trušu nelielo izmēru un īpatņa individuālo imūno statusu, imunizācijai tiks izmantoti divi dzīvnieki grupā. Šāds dzīvnieku daudzums ir absolūti adekvāts; iegūtais asins paraugs, tilpumā no katra dzīvnieka, būs pietiekošs vēlamā mērķa, satur antivielas pret proteīnu CA9, sasniegšanai.</p>
<p>Pilnveide - Refinement</p>	<p>Vispiemērotākais laboratorijas dzīvnieku modelis, poliklonālo antivielu ieguvei pētniecības vajadzībām, ir trusis (<i>Oryctolagus cuniculus</i>). To viegli uzturēt, imunizēt; imunizācijas devas ir salīdzinoši nelielas, to imūnā atbilde veidojas ātri, stabili.</p> <p>Dzīvnieku aklimatizācija pēc to iegādes no sertificētas dzīvnieku audzētavas notiks 10 dienas; tiem tiks nodrošināti visi, atbilstoši to sugai, eksistenciālie apstākļi (dzeramais ūdens, barība, siens gan ēšanai, gan migas veidošanai; koka pagalītes graušanai).</p> <p>Procedūrā ietvertu manipulāciju pareizu norisi nodrošinās profesionāla darbība ar dzīvnieku; tiks izmantoti tikai kvalitatīvi, sterili materiāli, instrumenti, novēršot iespējamu infekciju risku. Asins paraugu ievākšanas laikā trusis tiks izolēts speciālā procedūru telpā. Nav paredzēts, ka proteīnu injekcijas trusī varētu izraisīt sāpes, diskomfortu; pirms mazu asins tilpumu ņemšanas no truša auss tiks veikta lokālā anestēzija ar EMLA krēmu. Dzīvnieku veselība eksperimenta laikā tiks rūpīgi novērota, kontrolēta, izvērtējot trušu grimases atbilstoši literatūrā dotai trušu labsajūtas skalai (piem., spalva gluda, acis tīras, paradumi ikdienišķi; poza, galvas, auss stāvoklis atbilstošs. Truši tiks svērti katru otro dienu; trušu svēršana tiks veikta arī trušu injekciju dienās- tieši pirms imunizāciju veikšanas. Ja tiks novērots, ka dzīvniekam ir lielākas ciešanas, kā plānots (apātija, svara zudums, nekustīgums u.c.), nekavējoties sazināsimies ar veterinārārstu un, nepieciešamības gadījumā, dzīvniekam vairs neveiks imunizācijas procedūras- tas tiks nekavējoši ievests dziļā narkozē, veikta asins paraugu iegūšana, kam sekos humāna dzīvnieka nāve.</p> <p>Speciālists, kas veiks darbības ar trušiem ir apmācīts šādām darbībām (FELASA sertifikāts); tam ir vismaz 15 gadu pieredze darbā ar šo sugu dzīvniekiem. Sertificēts veterinārārsts būs pieejams gan konsultācijai, gan klātienē.</p>

