

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Uzyskanie przeciwciał anti-wydzielnicze białko bogate w cysteinę (CRIPS) w wyniku immunizacji królika białkiem CRISP wyizolowanym z plazmy nasienia indora.
2. Czas trwania: wrzesień – grudzień 2017.
3. Słowa kluczowe: wydzielnicze białko bogate w cysteinę, nasienie, indor, przeciwciała, królik.
4. Cel projektu (art.3 ustawy): A. Badania podstawowe (kategoria układ odpornościowy).
5. Opis planowanego doświadczenia:

Wydzielnicze białko bogate w cysteinę wyizolowane zostanie z plazmy nasienia indora przy użyciu technik chromatografii cieczowej m.in. chromatografii oddziaływań hydrofobowych oraz filtracji żelowej. W celu wytworzenia przeciwciał anti-CRISP, czyste preparaty białkowe CRISP w połączeniu z adjuwantem Freuda podane zostaną królikowi w 2-3 iniekcjach śródskórnych w odstępach 2 tygodni. Przeciwciała uzyskane zostaną po skrwawieniu królika. Uzyskane w wyniku immunizacji, królicze przeciwciała anti-CRISP, posłużą do immunohistochemicznej lokalizacji CRISP na terenie układu rozrodczego indora. Przeciwciała zostaną także wykorzystane w testach ELISA do pomiarów stężenia CRISP w plazmie nasienia indora oraz w technice Western blot w celu identyfikacji i porównania proteoform CRISP w poszczególnych odcinkach układu rozrodczego indora (jądro, najądrze, nasieniowód).
6. Liczba oraz gatunek zwierząt planowanych do wykorzystania w doświadczeniu:

Króliki rasy Białej Nowozelandzkiej - stado niekrewniacze, linia hodowlana SPF, F10/2 - sztuk 2.
7. Opis uwzględnienia w doświadczeniu zasad zastąpienia, ograniczenia oraz udoskonalenia (3R)

Zasada zastąpienia. Zaplanowane badania dotyczą badań *in vivo*, których nie można zastąpić modelem *in vitro*.

Zasada ograniczenia. W procedurze zaplanowano uśmiercenie jednego królika kontrolnego i jednego królika szczepionego antygenem. Jest to minimalna liczba zwierząt jaka może być użyta do pozyskania przeciwciał. Minimalną liczebność królików zaplanowano na podstawie przeglądu literatury. Wybór królika, zamiast myszy lub szczura laboratoryjnego, także pozwala na ograniczenie liczby uśmierconych zwierząt. Objętość krwi, jaką można uzyskać od jednego królika waha się w przedziale od 130 do 200 ml. Jest to odpowiednia objętość do uzyskania wystarczającego stężenia przeciwciał niezbędnych do przeprowadzenia kilku różnych testów.

Zasada udoskonalenia. Zaplanowane czynności w procedurze 1 pt. „Immunizacja królików wyizolowanym preparatem CRISP oraz pozyskanie krwi obwodowej królika w celu pozyskania wytworzonych przeciwciał” zostaną przeprowadzone z bezwzględnym zastosowaniem wszelkich postępowań ograniczających w jakimkolwiek stopniu cierpienie zwierząt (czynności wykonywane pod znieczuleniem/narkozą). Istotnym faktem zapewniającym dobrostan zwierząt jest wieloletnie doświadczenie w pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi pracowników Zwierzętarni Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego.