

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projekt: Biochemiczna i molekularna charakterystyka enolazopodobnego białka powierzchniowego pałeczek *Salmonella* oraz jego rola w rozwoju infekcji i chorób autoimmunologicznych.

2.Czas trwania projektu 01.06.2017 - 31.03.2020

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) *Salmonella*, choroby autoimmunologiczne, enolaza

4.Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): A

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Zaplanowane doświadczenie jest bezpośrednio związane z projektem naukowym "Biochemiczna i molekularna charakterystyka enolazopodobnego białka powierzchniowego pałeczek *Salmonella* oraz jego rola w rozwoju infekcji i chorób autoimmunologicznych".

Do realizacji projektu niezbędne jest uzyskanie przeciwciał anty-enolazy cytozolowa *Salmonella*. Ten etap projektu bezpośrednio związany jest z procedurą i jej czynnościami opisanymi we wniosku. Pozyskanie przeciwciał będzie możliwe poprzez trzykrotną immunizację królików nowozelandzkich roztworem enolazy cytozolowej *Salmonella* co ma na celu wywołanie odpowiedzi immunologicznej przeciwko podanemu antygenowi i produkcji przeciwciał. Uzyskanie dzięki immunizacji królików przeciwciał anty enolazy bakteryjna, jest niezbędne do określenia lokalizacji białek enolazopodobnych

w błonie komórek *Salmonella* spp [Bednarz-Misa 2007]. Otrzymane przeciwciała umożliwią również sprawdzenie, czy enolaza błonowa pałeczek *Salmonella* spp. stanowi receptor dla plazminogenu ludzkiego [Hurmalainen i in. 2007, Pancholi i in. 2004]. Zjawisko to wskazywałoby na kluczową rolę enolazy w mechanizmie inwazyjności *Salmonella* spp. Wykazanie obecności białek enolazopodobnych na powierzchni komórek *Salmonella* spp. mogłoby też świadczyć, że bakteria ta, wskutek zjawiska mimikry cząsteczkowej, staje się niewrażliwa na system obrony immunologicznej gospodarza co może skutkować rozwojem chorób autoimmunologicznych [Lang i in. 2000, Gitlis i in. 2001, Sakkas i in. 2014, Witkowska i in. 2005].

W świetle najnowszej wiedzy, dotychczas nie przeprowadzono doświadczeń związanych z immunizacją zwierząt enolazą cytozolową *Salmonella* spp. i zbadania wyżej wymienionych właściwości tego białka. Podjęcie przedstawionych problemów uzasadnione jest faktem, iż mimo szeroko rozpowszechnionej wiedzy na temat patogenyzy, dróg transmisji i prewencji, zakażenie pałeczkami *Salmonella* pozostaje nadal jedną z głównych przyczyn zatrucia pokarmowego niemowląt, dzieci w wieku przedszkolnym i szkolnym, co wiąże się z koniecznością leczenia szpitalnego.

Literatura:

1. Bednarz-Misa I.: Enolaza z bakterii *Klebsiella pneumoniae* - własności molekularne i kinetyczne, udział w procesie inwazyjności bakterii oraz rola w chorobach autoimmunoagresyjnych-praca doktorska, Wrocław 2007.
2. Gitlis VM., Toth BH., SENTRY JW.: Disease association, origin and clinical relevance of auto antibodies to the glycolytic enzymes enolase. *J. Investig. Med.*, 2001, 49 (2): 138-145.
3. Hurmalainen V., Edelman S., Antikainen J., Baumann M., et al.: Extracellular proteins of *Lactobacillus crispatus* enhance activation of human plasminogen. *Microbiology*, 2007, 153(4):1112-22.
4. Lang H.: Outer membrane proteins as surface display system. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2000, 290:7, 579-85
5. Pancholi V.: Multifunctional α -enolase: its role in diseases. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2001, 58 (7): 902-920.
6. Popoff MY., Bockemuhl J., Gheesling LL.: Supplement 2002 (no.46) to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol.*, 2004, 155(7):568-70.
7. Sakkas LI., Bogdanos DP., Katsiari C., Platsoucas CD.: Anti-citrullinated peptides as autoantigens in rheumatoid arthritis-relevance to treatment. *Autoimmun Rev.*, 2014., pii: S1568-9972(14)00156-6.
8. Witkowska D., Pietkiewicz J., Szostko B., Danielewicz R., et al.: Antibodies against human muscle enolase recognize a 45-kDa bacterial cell wall outer membrane enolase-like protein. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2005, 45: 53-62.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Cztery króliki nowozelandzki biały w stadium rozwojowym 10-16 tygodni.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam/~~sprawdziłem~~ istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

__EBSCO; X_PUBMED; X_Google Scholar; __AGRICOLA; X_ScienceDirect; __Web of Science (JCR); __

Wykorzystałam/~~em~~ słowa kluczowe:

Salmonella/cytoplasmic/enolase/rabbit/antibodies

proteins/membrane/autoimmunology/*Enterobacteriaceae*/mimicry

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że: Rola białek błony zewnętrznej bakterii w inwazyjności patogenów i generowaniu chorób autoimmunologicznych jest ważnym kierunkiem badań podstawowych.

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: Enolaza *Salmonella* może mieć udział w inwazyjności tej bakterii oraz wykazywać właściwości wywołujące poinfekcyjne choroby autoimmunologiczne.

B. Brak jest danych dotyczących: wpływu enolazy bakteryjnej *Salmonella* na inwazyjność tych bakterii i ich roli w zjawisku mimikry molekularnej tej bakterii.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: zbadanie roli enolazy bakteryjnej w mechanizmach inwazyjności bakterii *Salmonella* spp. oraz ocenę jej udziału w patogenezie chorób autoimmunologicznych.

Replacement: Nie można zastosować metody badawczej zapewniającej osiągnięcie celów planowanego doświadczenia bez wykorzystania zwierząt. Otrzymanie przeciwciał poliklonalnych potrzebnych w eksperymencie jest możliwe tylko poprzez immunizację zwierząt laboratoryjnych. W świetle najnowszej wiedzy, dotychczas nie przeprowadzono doświadczeń związanych z immunizacją zwierząt enolazą *Salmonella* spp. w celu zbadania wyżej wymienionych właściwości tego białka.

Reduction: Doświadczenia przeprowadzone w ramach projektu naukowego zostały zaplanowane tak, żeby liczbę zwierząt potrzebnych do przeprowadzenia procedury zredukować, zapewniając również

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

największe prawdopodobieństwo osiągnięcia planowanego wyniku procedury. Jeśli pierwsza para królików poddanych immunizacji wykaże wystarczającą odpowiedź na poddany antygen poprzez wytworzenie przeciwciał o wysokiej specyficzności i powinowactwie, następne króliki nie będą immunizowane.

Refinement: Wykorzystane w doświadczeniu zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla gatunku a zastosowane metody procedur zostały wybrane tak żeby ograniczyć do minimum ból, cierpienie i dystres zwierzęcia. Wszelkie procedury i ich intensywność zrównoważono, tak żeby doświadczenie zostało zakończone pomyślnie, przy jednoczesnej minimalizacji cierpienia zwierzęcia, tj. mała dawka szczepienia, pobieranie próbek krwi poniżej 10% objętości całkowitej, zastosowanie humanitarnego zakończenia procedury.