

Ocena *in vivo* skuteczności przeciwnowotworowej badanych przeciwciał w modelu ksenograftu linii komórkowej (CDX) ludzkiego raka w humanizowanych myszach CD34+ NSG

Szczegóły nieujęte w poniższym tekście zostaną opisane w szczegółowym protokole badania opracowanym na etapie przygotowywania umowy.

1. Cel

Badanie ma na celu ocenę skuteczności testowanych przeciwciał w modelu ksenograftu linii komórkowej (CDX) ludzkiego raka w humanizowanych myszach CD34+ NSG,

2. Zwierzęta

Do eksperymentów zostaną użyte samice myszy NSG ze wszczepionymi ludzkimi komórkami CD34+, posiadające ludzkie komórki CD45+ we krwi obwodowej po minimum 14 tygodniach od implantacji. Zostaną wykorzystane kohorty myszy hu-CD34 NSG ze wszczepionych komórkami CD34+ od dwóch (2) lub więcej niezależnych dawców. Myszy powinny być dopasowane pod względem wieku, przy czym należy utrzymać co najmniej $n=10$ myszy na grupę doświadczalną. W badaniu planuje się 4 grupy zwierząt – 3 grupy kontrolne i jedną grupę eksperymentalną. Myszy zostaną oznakowane klipsami na uszach w celu identyfikacji i umieszczone w indywidualnie wentylowanych klatkach z polisulfonianu z filtrem powietrza HEPA. Należy zapewnić i utrzymywać optymalne oświetlenie, wilgotność i temperaturę w pomieszczeniach zwierzętarni. Mysiom należy podawać przefiltrowaną i autoklawowaną wodę pitną. Oferty bez odpowiednich certyfikatów będą wykluczane.

3. Substancje badane

Biologicznie aktywne artykuły testowe 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 oraz kontrola zostaną dostarczone przez Sponsora wraz z protokołem formulacji. Wszystkie związki zostaną przygotowane świeżo przed podaniem dożylnym. Przegląd szczegółów eksperymentu przedstawiono w Tabeli 1.

4. Dawkowanie i sposób podawania

Badane przeciwciała zostaną podane drogą dożylną, dawka zostanie ustalona w późniejszym czasie.

5. Ogólny plan badań i pobranie próbek

- W dniu -1, myszy zostaną napromieniowane (dawka 2 Gy) i w dniu 0 zostaną im wstrzyknięte dożylnie komórki docelowe. W dniach 7, 14 i 21 myszy otrzymają dożylnie PBS lub 1×10^7 rozhodowanych komórek efektorowych. Od 7 dnia myszy będą również otrzymywać PBS lub testowane przeciwciała (np. 100 µg na mysz, TBD) dootrzewnowo co tydzień do maksymalnie 4 tygodni.

Uwaga: Zamawiający dostarczy linię komórek nowotworowych w transporcie na suchym lodzie. Zamawiający odpowiedzialny jest za dostarczenie protokołu hodowli komórek.

- Myszy będą monitorowane codziennie, a pomiary masy ciała i obserwacje kliniczne będą rejestrowane co najmniej 2 razy w tygodniu. Próbkki krwi będą pobierane w dniach 20. i 50. badania.
- Myszy zostaną poddane eutanazji w przypadku znacznej utraty masy ciała (>10% początkowej masy ciała), paraliżu lub innych objawów ciężkiego obciążenia chorobą. Od myszy zostaną pobrane próbki krwi i szpiku kostnego, i wykonane zostanie profilowanie komórek immunologicznych.

Uwaga: W przypadku zwierząt, które będą musiały zostać poddane eutanazji wcześniej niż planowano, guzy i narządy zostaną pobrane i będą przechowywane w optymalnej temperaturze (-80°C) do czasu wysyłki.

- W dniu zakończenia eksperymentu badane myszy zostaną poddane eutanazji, a guzy i narządy zostaną pobrane i przechowywane.
- Wątroba, śledziona, serce, płuca, nerki, mózg i guzy zostaną pobrane, utrwalone w formalinie i zatopione w parafinie (FFPE) do analizy immunohistochemicznej (IHC) i wysłane do sponsora. Analiza krwi zostanie wykonana pod kątem standardowego panelu cytokin.

Uwaga: Badanie może zostać w razie potrzeby rozszerzone, po wcześniejszym uzgodnieniu z Zamawiającym.

6. Raport z wykonanych badań

Należy przygotować raport z wykonanych badań w standardzie non-GLP. Wszystkie dane eksperymentalne zostaną dostarczone Sponsorowi jako surowe dane, oraz jako podsumowanie w formacie prezentacji PowerPoint. Sponsorowi należy dostarczyć obszerny raport z badania wraz z interpretacją wyników.

Uwaga: Wykonawca uzgodni ze Sponsorem harmonogram dostarczenia szczegółowego raportu z badania wraz z protokołami i wynikami.

Tabela 1: Schemat badania

Numer grupy	Badana substancja	Szczep myszy	Humanizacja	Liczba myszy w grupie	Dawka (mg/kg)	Sposób podania	Częstotliwość podania
1	kontrola	NSG	CD34+	10	n/a	IV	Q(TBD)DX4
2	kontrola + komórki efektorowe	NSG	CD34+	10	TBD	IV	Q(TBD)DX4
3	Badane przeciwciała (1 to 10)	NSG	CD34+	100	TBD	IV	Q(TBD)DX4

4	Badane przeciwciała (1-10) + komórki efektorowe	NSG	CD34+	100	TBD	IV	Q(TBD)DX4
---	---	-----	-------	-----	-----	----	-----------

IV- podanie dożylnie; n/a – nie dotyczy; Q(TBD)Dx4 - dawkowanie co N (do ustalenia) dni x4