

## Proces verbal

Sedinta de lucru in cadrul proiectului GreenVac

Data: 28.02.2015

Loc: Institutul de Biochimie

Ore: 11.30- 13.30

Participanti:

PP	P2
Norica Nichita	Crina Stavaru
Catalin Lazar	Iuliana Caras
Ionut Popescu	Adriana Costache
	Catalin Tucureanu

Ordinea de zi:

1. Calendarul de lucru
2. Furnizarea de antigene, nr de antigene preconizat.
3. Protocoale experimentale
4. Metodologie de testare

### Antigene (Ag):

- au fost sintetizate 3 peptide antigenice HBV si 7 peptide antigenice HCV in sistem eucariot
- in plante au fost obtinute 2 antigene: 1HBV si 1HVC
- nu a fost efectuata extractia antigenelor de interes din plante – urmeaza a fi efectuata de PP
- antigenele obtinute in sistem eucariot sunt in cantitati mici
- pentru imunizari vor fi furnizate: 2 Ag HBV (1-obtinut in sistem eucariot; 1-obtinut in plante) si 2 Ag HCV(1-obtinut in sistem eucariot; 1-obtinut in plante)
- pentru caracterizare proteica s-a stabilit furnizarea de 100 ug proteina totala/experiment
- antigene sunt necesare si pt ELISA aprox 1ug/ml respectiv aprox 10ml/placa

### Protocoale experimentale

Se va incepe cu un **studiu pilot** pentru a selecta cele mai imunogene antigene

- calea de administrare: intramuscular (im)
- nr. administrari: 2 im la interval de 2 saptamani
- doza: 5ug antigen/soarece/doza
- volum inoculat/doza: 50ul maxim 100 ul im
- tulpina soareci: Balb/c
- nr. minim de soareci/lot: 5 soareci femele cu varsta intre 6-8 saptamani

*Nota bene:* Daca proteina antigenica nu poate fi concentrata suficient pentru un inocul de 50-100ul/doza/soarece/im se va opta pt imunizarea intraperitoneala  
 calculele se vor face la un estimat de proteina antigenica si nu la proteina totala rezultata  
 Draft imunizare:

Nr.lot	Imunizare	Nr soareci F/6-8sapt	Inocul cu adm. im
I- CONTROL	Ser fiziologic	5	5ugAg/50-100ul
II-HBV-E	Ag HBV-obtinut in sistem eucariot	5	
III-HBV-P	Ag HBV-obtinut in plante	5	
IV-HCV-E	Ag HCV-obtinut in sistem eucariot	5	
V-HCV-P	Ag HCV-obtinut in plante	5	

- Inoculare ziua 1 si ziua 14
- Sangerare in ziua 28 prin punctie retroorbitara
- volum estimat de ser obtinut/soarece: 10-20ul
- Sangerare finala in ziua 42
- volum estimat de ser obtinut/soarece: 30-100ul

Metodologie de testare

1. Determinari serologice:
  - Ig G total
  - Ig M total
2. Analize proteice pentru caracterizarea abundentei relative si a dimensiunii proteice

Calendar

<u>aprilie</u>	<u>mai</u>	<u>iunie</u>	<u>iulie</u>	<u>august</u>	<u>septembrie</u>	<u>octombrie</u>	<u>noiembrie</u>
<b>furnizare antigene</b>	<b>studiu pilot</b>	determinari Ig selectarea Ag cele mai imunogene elaborare protocol imunizare orala	protocol 1 imunizare orala		protocol 2 imunizare orala		

*Nota bene:* Studiile experimentale au o durata mare