

Informe Científico por exclusividad

Carlos Sebastián Muñoz, como Investigador Distinguido Beatriz Galindo Senior e Investigador Principal del proyecto RN002039 código oficial PID2020-114783RB-I00, titulado: "*La regulación metabólica de la actividad de las células madre como factor determinante en el cáncer colorrectal*" y financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades / Agencia Estatal de Investigación, MCIN/ AEI /10.13039/501100011033,

Informo y justifico que, por necesidades y para conseguir la finalidad del objeto del proyecto, es necesario la generación y el mantenimiento de colonias de ratones modificados genéticamente y el uso de ratones inmunodeficientes para estudiar el efecto del metabolismo de la glucosa en la iniciación y progresión del cáncer colorrectal. Estos ratones deben ser mantenidos en condiciones SPF (*specific pathogen free*) para garantizar que estén sanos y libres de patógenos que puedan interferir con los experimentos. Además, los estudios preliminares presentados para este proyecto fueron realizados en estas condiciones en las instalaciones del Candiolo Cancer Institute-FPO (Italia) y el uso de las instalaciones del PCB – Fundació Parc Científic de Barcelona (en adelante PCB) – y su gasto asociado ya estaba especificado y detallado en la memoria inicial del proyecto.

El PCB tiene unas características específicas de estabularlo SPF (Specific Patogen Free), además de tener precios especiales muy competitivos con descuento del 50 % sobre tarifas por ser personal investigador de la Universitat de Barcelona.

El periodo estimado de gasto de estabularlo en el PCB se estima de octubre de 2021 a agosto de 2024, fecha prevista de finalización del proyecto.

Se han realizado pedidos **del periodo comprendido entre 10/2021 y 1/2023 per un total de 24.179,08€**. Se hace una nueva valoración del periodo restante previsto que es **2/2023 a 8/2023** (2.000,00€ mensuales) siendo una total inicial de 38.000€. Debido a la dificultad de delimitar este importe se ha realizado una previsión de un posible incremento de un 20 % como modificación prevista con la LCSP (7.600€) y un posible decremento por el mismo porcentaje (20%) Por lo tanto se considera que el importe del contracte per exclusividad seria per un **total máximo de 38.000€** (sin IVA).

ANIMALES

Los ratones (*Mus musculus*) que se utilizaran en este proyecto son: ratones modificados genéticamente (*Pdk1-mCherry*, *Pdk1-CreERT2*, *ROSA26-CAG-tdTomato*, *APC lox/lox*, *ROSA26-DTA*), ratones C57BL6/J y ratones NOD-SCID. Los ratones transgénicos son de bajo riesgo y se alojarán en una habitación registrada para garantizar el aislamiento de las poblaciones silvestres. Los ratones transgénicos se identifican individualmente y se alojan en instalaciones aisladas. Su manipulación se realiza tomando las precauciones necesarias para evitar la fuga o el contacto con animales salvajes. Todos los cadáveres y las muestras tomadas de estos animales transgénicos se destruyen mediante incineración.

Las líneas generadoras de las líneas *ROSA26-CAG-tdTomato*, *APC lox/lox* ya se mantenían de partida en el animalario del PCB (donación del laboratorio del Dr. Eduard Batlle), las líneas *Pdk1-mCherry* y *Pdk1-CreERT2* fueron generadas en el Candiolo Cancer Institute-FPO y rederivadas en el animalario del Hospital Clínic de Barcelona y la línea *ROSA26-DTA* ha sido adquirida de Jackson Laboratories. En todos los casos, los ratones han sido mantenidos en condiciones SPF.

Dado que los resultados previos presentados en la memoria científico-técnica del proyecto fueron realizados en esas condiciones específicas de estabulación, el traslado de la colonia generaría un estrés adicional y cambios en la

microbiota de los animales. En el proyecto actual estamos analizando el papel del metabolismo en el cáncer colorrectal y, por tanto, cualquier cambio en el ambiente de estabulación afectaría a los resultados obtenidos.

PROTOCOL EXPERIMENTAL

Los experimentos propuestos en ratones vivos son absolutamente necesarios para el cumplimiento de los objetivos detallados en el plan de trabajo del proyecto. Durante estos experimentos, los ratones son mantenidos bajo vigilancia continua por investigadores con formación en comportamiento animal y, por lo tanto, podrán detectar signos de dolor. Durante cualquier procedimiento, los animales serán controlados mediante un seguimiento adecuado del animal (frecuencia cardíaca y respiratoria, nivel de reflejos) por parte de investigadores y veterinarios del animalario del PCB. Como regla general, el peso corporal, el comportamiento general, la ingesta de alimentos y agua de los ratones se controlarán en todos los ratones de experimentación. Los procedimientos incluyen inyección subcutánea de células tumorales, inyección intraperitoneal de diferentes sustancias, trasplante ortotópico de células tumorales en el ciego, y experimentos de formación de tumores en las líneas transgénicas.

LABORATORIOS

En nuestros experimentos utilizaremos salas específicas para la cría y el mantenimiento de colonias transgénicas, salas de experimentación animal, salas de cirugía y salas de gran equipamiento (IVIS), todas ellas en condiciones SPF.

La zona de sacrificios está totalmente equipada para nuestras necesidades con campanas para perfusión y fijación de tejidos para estudios de histología. Los tejidos obtenidos en la zona de sacrificio son inmediatamente transferidos a nuestro laboratorio ubicado en el PCB o a los servicios científico-técnicos del IRB o PCB, evitando una posible contaminación cruzada por traslado de muestras a diferentes centros de investigación.

Por todo lo expuesto firmo a Barcelona