



Informe Científic d'exclusivitat tècnica

Maria Isabel Hernandez Alvarez com a Investigadora postdoctoral Ramon y Cajal i investigadora principal del projecte RL001442 codi oficial Health Research 2021, HR21-00430, titulat: "Phospholipid biosynthesis and transport between endoplasmic reticulum and mitochondria: understanding their essential role in liver disorders" i finançat per la Fundació Caixa de Pensions 'La Caixa', del Departament de Bioquímica i Biomedicina Molecular de la Universitat de Barcelona,

Informo i justifico, que per al correcte assoliment dels objectius del projecte, es necessari crear i mantenir una colònia de ratolins, als que s'extreu les proteïnes KO MFN2 i MFN1 específiques del fetge, fent la comparació entre mascles i femelles. Com que els estudis preliminars presentats per a aquest projecte (només macles) ja es van realitzar a la Fundació Parc Científic de Barcelona (endavant PCB), en la memòria inicial del projecte ja es van especificar i detallar les despeses relacionades amb el PCB.

El PCB te unes característiques específiques d'estabulari SPF(Specific Patogen Free), a més de tenir preus especials molt competitius amb un descompte del 50% sobre tarifes per ser personal investigador de la Universitat de Barcelona.

El període de despesa de l'estabulari al PCB s'estima entre juliol 2023 i agost 2024, data de finalització del projecte 1 d'octubre de 2024.

S'ha realitzat una valoració **durant el període comprés entre juliol de 2023 i agost de 2024 per un total estimat de 28.000,00 €**. Degut a la dificultat de delimitar quest import, s'ha realitzat una previsió d'un possible increment de 20% com a modificació prevista amb la LCSP (5.600,00€), i un possible decrement del mateix percentatge (20%). Per tant es considera que l'import de la licitació mitjançant procediment negociat sense publicitat per raó d'exclusivitat tècnica, seria per un **total màxim de 33.600,00€** (sense IVA).

ANIMALS

Els ratolins (*Mus musculus*) que s'utilitzaran a WP1 i WP2 d'aquest projecte son ratolins modificats genèticament: ablació específica de fetge de *Mfn2* y ablació específica de fetge de *Mfn1*.

Aquests ratolins son transgènics de baix risc, i s'allotgen en una habitació registrada per tal de garantir-ne l'aïllament de les poblacions externes. Els ratolins transgènics s'identifiquen individualment i s'allotgen en instal·lacions aïllades. La seva manipulació es realitza prenent les precaucions necessàries per tal d'evitar la fuga o el contacte amb animals salvatges. Tots els cadàvers i les mostres preses d'aquests animals transgènics es destrueixen per incineració.

Les línies generadores d'aquests ratolins ja es mantenen d'inici als animals del PCB, que està integrat dins del Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona (PRBB) mitjançant els següents procediments aprovats per la Generalitat de Catalunya: Protocol per a treballar amb ratolins modificats genèticament (Nº 9279-P1 DAAM 8566 y 9279-P4 hep).

A més, tal i com es va mencionar en la memòria científicotècnica del projecte, els progenitors dels animals d'experimentació d'aquest projecte ja es trobaven estabulats a les instal·lacions del PCB, i a més, els resultats previs presentats a la memòria científicotècnica del projecte van ser realitzats en aquestes condicions específiques d'estabulació. El trasllat de la colònia generaria un estrès addicional i canvis en la microbiota dels animals. Al projecte actual estem utilitzant les diferències metabòliques entre sexes de les mateixes línies, pel que qualsevol canvi a l'ambient d'estabulació afectaria els resultats previs. Per tant, és necessària una condició d'estabulació idèntica durant tot el projecte per a obtenir resultats en la mateixa línia per al bon desenvolupament d'aquest projecte.

Expediente 2023/136

PROTOCOL EXPERIMENTAL

Les proves amb ratolins vius son absolutament necessàries per a efectuar els estudis detallats al pla de treball del projecte. Durant l'estudi, els ratolins es mantenen vigilats de manera continua per investigadors exposats al comportament normal dels animals y, per tant, podran detectar signes de dolor. Durant qualsevol fase del procediment, els animals es controlaran mitjançant un seguiment adequat de l'animal (freqüència cardíaca y respiratòria, nivell de reflexos) per part d'investigadores i veterinaris de l'estabulari del PCB. Com a norma es controlarà el pes corporal, el comportament general, la ingesta d'aliments i aigua de tots els ratolins de l'experiment. Farem assajos metabòlics com tests de tolerància la glucosa i la insulina. Analítiques de composició de cos sencer per a animals vius. Mesura de consum d'aliments i aigua i recollida d'excrements. I mesuratge de consum d'oxigen i coeficient respiratori.

Per a obtenir biòpsies de teixit, els ratolins s'anestesien mitjançant una injecció intraperitoneal (pentobarbital sòdic) i després sacrificats per dislocació cervical.

LABORATORIS

Per a anàlisis metabòlics fem us dels equips instal·lats del PCB com l'equip EcoMRI, Gàbies metabòliques, Oxyman per al consum d'oxigen, així com dels Laboratoris per a us exclusiu de soques en estabulació SPF per a test de tolerància a la glucosa i a la insulina.

El PCB compta amb instal·lacions que tenen entorn d'estabulació especial (que no es troba en els animals propers a la Facultat de Biologia). Aquesta estabulació consisteix en separar les sales de creuament, de cria i d'experimentació. L'excepcionalitat de l'estabulari del PCB (a banda de la proximitat amb la Facultat i dels serveis d'equipament que ofereix) consisteix en que cada gàbia té el seu propi sistema de recirculació d'aire evitant així la contaminació creuada, canvis en la qualitat de l'aire i l'exposició d'hormones entre mascles i femelles. Específicament en aquest projecte es molt important no exposar a les femelles a estímuls externs als del propi experiment.

La zona de sacrificis (que es troba totalment aïllada de la zona d'estabulació) està totalment equipada per a les nostres necessitats com campanes per a perfusió i fixació de Teixits per a estudis d'histologia i microscòpia electrònica. Els Teixits obtinguts a la zona de sacrifici son immediatament transferits a les instal·lacions on es realitzen els estudis d'anàlisi de teixits. Evitant una contaminació creuada per trasllat de mostres a diferents centres d'investigació.

Tenint en compte que els experiments previs a aquest projecte s'han realitzat íntegrament a l'estabulari del Parc Científic de Barcelona, per tant i per garantir les condicions experimentals idèntiques es imprescindible mantenir en la mateixa institució i durant la vigència del projecte la colònia de ratolins.

Barcelona, 29 de maig de 2023

Dra. María Isabel Hernández Alvarez