

Numéro d'agrément du laboratoire	
Numéro de projet de la commission d'éthique	2020-06
Titre scientifique du projet	
Titre non-technique du projet	Différenciation des cellules souches canines en cellules gliales et neurones en culture 3D
Date d'autorisation du projet par la commission d'éthique	30/01/2020
Durée du projet (date de début et de fin)	Début proposé : 01/02/2020 Fin estimée : 31/12/2025
Le projet fera l'objet d'une analyse rétrospective (oui/non) et dans quel délai	Oui, après la fin de l'étude
Mots Clés (maximum 10 mots / 100 caractères)	Chien, biopsie musculaire, cellule souche mésenchymateuse, culture cellulaire, neurone, cellule gliale
Objectif du projet	<p>Recherche fondamentale : oui  Recherches translationnelle ou appliquée : non  Test réglementaire et production de routine : non  Protection de l'environnement naturel dans l'intérêt de la santé ou du bien-être de l'homme ou de l'animal : non  Conservation des espèces : non  Enseignement supérieur ou formation : non  Enquête médico-légale : non  Maintien de colonies d'animaux génétiquement modifiés, non utilisés dans d'autres expériences : non  Maintien de colonies d'animaux génétiquement modifiés, non utilisés dans d'autres expériences : non</p>
Décrivez les objectifs du projet (par exemple, les inconnues scientifiques ou les nécessités scientifiques ou cliniques concernées) (1000 caractères maximum)	<p>Dans les tissus vivants, les cellules existent dans des microenvironnements tridimensionnels avec des interactions complexes entre cellules et entre cellules et matrice. Les cultures cellulaires 2D sont des représentations inadéquates de cet environnement, ce qui en fait souvent des prédicteurs peu fiables de l'efficacité ou de la toxicité des médicaments <i>in vivo</i>. Les sphéroïdes 3D ressemblent davantage aux tissus <i>in vivo</i> en termes de communication cellulaire et de développement de matrices extracellulaires. Plusieurs supports ont été décrits pour soutenir une culture 3D : matrices de polycarbonate ou de polystyrène, hydrogels, ou encore des cultures 3D magnétiques sans matrice.</p> <p>Le but de notre étude est de cultiver des cellules souches canines en culture 3D utilisant du plasma gélifié comme matrice. Dans une deuxième phase, les cellules seront différenciées en cellules neurone-<i>'like'</i> et en cellules gliales. Le développement d'une culture 3D de cellules neurone-<i>'like'</i> ou gliales en monoculture ou en co-culture permettra de: 1) tester la toxicité des médicaments <i>in vitro</i> et 2) développer une stratégie thérapeutique visant à remplacer les cellules neuronales et gliales lésées <i>in vivo</i>.</p>
Quels sont les avantages potentiels susceptibles de découler de ce projet (quelles avancées de la science pourraient-elles être attendues ou comment les humains, les animaux ou les plantes pourraient-ils bénéficier du projet)? (1000 caractères maximum)	Le développement d'un modèle de culture de cellules neuronale et gliale canine en 3D permet de tester des médicaments sans devoir utiliser des chiens vivants. Les médicaments sélectionnés pourront ensuite faire l'objet de phase précliniques et cliniques
Quelles sont les espèces animales qui seront utilisées ?	Chien, Beagle

Quel est le nombre maximal d'animaux ?	Maximum 10
Dans le contexte de ce qui est fait aux animaux, quels sont <u>les effets négatifs attendus</u> sur les animaux, <u>le niveau de gravité</u> probable ou attendu et <u>le sort</u> des animaux?	La microbiopsie musculaire est peu invasive. La ponction se fait avec une aiguille de faible diamètre. La zone de prélèvement est anesthésiée avant l'intervention. Dans le passé, nous n'avons pas observé d'effet secondaire de cette technique. Néanmoins, il reste un très faible risque de sensibilisation de la zone directement après le prélèvement. Les animaux resteront dans le chenil après le prélèvement. Il n'y a aucun effet secondaire attendu à long terme.
Application des 3Rs	
1. Remplacement (1000 caractères maximum)	
Indiquez pourquoi des animaux doivent être utilisés et pourquoi des alternatives n'utilisant pas d'animaux ne peuvent être utilisées	Le but est de cultiver des cellules souches canines qui ne peuvent provenir que de la même espèce. Une seule biopsie permet d'obtenir un nombre de cellules s'élevant jusqu'à 100 millions après trois passages.
2. Réduction (1000 caractères maximum) Expliquez comment l'utilisation d'un nombre minimum d'animaux est garantie	Les cellules souches montrent une certaine variation au niveau de la vitesse de la croissance et de la réponse aux facteurs de croissance en fonction du donneur. Il est donc nécessaire de confirmer les protocoles de culture cellulaire sur plusieurs chiens différents (mâle, femelle, jeune adulte, adulte, gériatrique).
3. Raffinement (1000 caractères maximum) Expliquez le choix des espèces animales et pourquoi le(s) modèle(s) animal(aux) utilisé(s) sont les plus raffinés, eu égard aux objectifs scientifiques	Le but est de cultiver des cellules souches canines. Une seule biopsie permet d'obtenir un nombre considérable de cellules. Le but est de remplacer, à l'avenir, des expériences animales par l'utilisation des cultures cellulaires 3D.
Expliquez les mesures qui seront prises pour minimiser les effets négatifs sur le bien-être des animaux (douleur, souffrance, inconfort ou dommages permanents).	La microbiopsie musculaire est une technique très peu invasive, qui par exemple, nécessite aucune analgésie ou anesthésie chez l'humain. Les chiens seront tranquilisés pour limiter le stress lié à la manipulation et recevront une anesthésie locale au niveau du site de ponction. Ce protocole s'est avéré extrêmement efficace dans le passé pour effectuer la même procédure.