Nationaal Comité
advies dierproevenbeleid

Advies Genetisch gemodificeerde dieren

‘Dood of gedood voor gebruik in fok of dierproef’ - deel 2 Kwaliteitscriteria

Advies van het Nationaal Comité advies dierproevenbeleid (NCad) in opdracht van de minister van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit

Het NCad en haar werkwijze

Het Nationaal Comité advies dierproevenbeleid (NCad) is ingesteld voor de bescherming van dieren die worden gebruikt voor wetenschappelijke doeleinden en voor onderwijs. Door advies, kennisuitwisseling en het ontwikkelen van (inter) nationale netwerken wil het NCad een belangrijke bijdrage leveren aan het minimaliseren van het proefdiergebruik, zowel nationaal als internationaal. De ethische toetsing van dierproeven en het Vervangen, Verminderen en Verfijnen (3V's) daarvan staan daarbij centraal.

Leden NCad

Herman Koëter (voorzitter), Henriëtte Bout, Reineke Hameleers, Coenraad Hendriksen, Wim de Leeuw, Jan-Bas Prins en Pieter Roelfsema.

Samenvatting

In 2015 heeft het NCad een advies (Deel 1) uitgebracht over het reduceren van het aantal genetisch gemodificeerde (GM)-dieren 'In voorraad gedood', met name gericht op vissen en muizen. Daarin is beschreven dat opeenvolgende technologische ontwikkelingen zich in een steeds hoger tempo aandienen en de 'genome-editing' technieken in grote mate de klassieke transgenese methoden zouden kunnen vervangen.
Om de kwaliteit van het genereren en fokken van genetisch gemodificeerde dieren in Nederland te bevorderen en alle betrokken partijen bewust te maken van keuzemomenten waar een reductie van het aantal dieren dat gedood wordt vóór gebruik in fok of dierproef kan worden bereikt heeft het NCad een aanvullend advies (deel II) uitgebracht. Daarin zijn kwaliteits- en efficiëntiecriteria opgesteld die aan een reductie dienen bij te dragen. De criteria bieden tevens een handvat voor het maken van goed beargumenteerde keuzes.
Dit advies gaat dus niet in op de fundamentele vraag of GM-dieren überhaupt gemaakt en gefokt zouden moeten worden.

Het NCad heeft in haar discussies grondig stilgestaan bij de vraag of het uitbrengen van het advies opportuun is. Dit vanwege het dilemma dat met gene-editing technieken een voor het experiment toegesneden genetisch veranderd dier gemaakt kan worden met minder dieren dan tot nu toe het geval is. Echter, de genome-editing technieken bieden ook nieuwe mogelijkheden om 'op maat' gezondheidsvraagstukken te bestuderen. Dit kan leiden tot een toename van het aantal gefokte lijnen en daarmee tot een stijging van het absolute aantal dieren dat vóór gebruikt te zijn in fok of dierproef wordt gedood. Het NCad heeft na ampele overweging toch gekozen voor het uitbrengen van dit advies omdat het bijdraagt aan het beoogde doel en bovenstaand dilemma adresseert.

Het NCad geeft de minister een vijftal adviezen:

- Adviseer de CCD om de in bijlage 1 en 2 opgenomen Codes of Practice (CoP) als uitgangspunten in de projectvergunningverlening te nemen.
  De in bijlage 1 vermelde kwaliteits- en efficiëntiecriteria zullen bijdragen aan het optimaliseren van de gehele keten van het modificeren en fokken van GM-dieren.

- Maak het gebruik van zogenaamde 'centres of excellence voor gentechnologie' ook wel Gene Technology Platform (GTP) te noemen, onderdeel van zowel de planning als het genereren van GM-lijnen.
  Binnen een GTP is de kennis aanwezig om te adviseren over de beste manier om een bepaald GM-diermodel te maken en de competentie en infrastructuur om het GM-diermodel vervolgens zo efficiënt mogelijk te genereren.
  De onderzoeker dient te beschikken over of tenminste toegang te hebben tot een dergelijke GTP.

- Laat de Gene Technology Platforms (GTP) zorgen voor een overzicht van beschikbare GM-lijnen. Dit vereist nauwe samenwerking en openheid tussen de verschillende onderzoekinstituten. Het initiatief hiervoor zou genomen moeten worden door de GTPs samen met de proefdierfaciliteiten.

- Beleg de fokcoördinatie bij de proefdierfaciliteit en zorg ervoor dat de verantwoordelijkheid en zorg voor toegang tot de juiste expertise en faciliteiten binnen deze taak belegd is. Tevens is de strategie voor cryopreservatie en rederivatie integraal onderdeel van de fokcoördinatie. De keuzes over de te volgen fokstrategie en de uitvoering dienen in nauw overleg met de verantwoordelijk onderzoeker en de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) te worden gemaakt.

- Entameer een maatschappelijke dialoog vergelijkbaar met het Nanopodium, over de toepassingsmogelijkheden van 'gene-editing'. De ontwikkelingen omtrent genetische modificaties liggen maatschappelijk namelijk gevoelig omdat het onder andere mogelijk is ook in andere diersoorten dan in muizen genetische modificaties aan te brengen.

In de bijlagen zijn twee CoPs toegevoegd die volgens de laatste inzichten zijn opgesteld door twee expert-werkgroepen. Het NCad is van mening dat het hanteren van de daarin vermelde criteria en kwaliteitsnormen zullen bijdragen aan het optimaliseren van de gehele keten van het modificeren en fokken van genetisch gemodificeerde dieren.

Summary

In 2015, the Netherlands National Committee for the protection of animals used for scientific purposes (NCad) issued an advisory report (Part 1) regarding the reduction of the number of genetically modified (GM) animals in the category of "Died or killed in stock", with a particular focus on fish and mice.
This report stated that successive technological developments are taking place at an ever-increasing rate and that "genome editing" techniques could, to a large extent, replace the traditional transgenic methods.
In order to improve the quality of the generation and breeding of genetically modified animals in the Netherlands and make all parties concerned aware of the specific, defining moments at which it is possible to reduce the number of animals killed before they are used in breeding or animal procedures, the NCad has issued a supplementary advisory report (Part II). This sets out specific quality and efficiency criteria for bringing about a reduction in the abovementioned numbers. These criteria also serve as a guide for taking properly justified decisions.
Hence, this advisory report does not address the fundamental question of whether GM animals should be created and bred in the first place.

In its discussions, the NCad has extensively considered the question of whether or not it is expedient to issue the advisory report. This is due to the dilemma that, on the one hand, gene editing techniques can be used to create a genetically altered animal that is tailor-made for a given experiment while using fewer animals in animal experiments than has hitherto been the case. However, on the other hand, genome editing techniques likewise offer new 'tailor-made' opportunities for studying health issues. This can lead to an increase in the number of breeding lines and therefore to an increase in the absolute number of animals killed before use in breeding or animal procedures. After ample consideration, the NCad nevertheless decided to issue this advisory report, because it contributes to the intended purpose and addresses the abovementioned dilemma.

The NCad provides the following five recommendations to the Minister:

- Advise the Central Authority for Scientific Procedures on Animals (CCD) to follow the Codes of Practice (CoP) as included in Appendices 1 and 2 as the basic principles for granting project permits.
  The quality and efficiency criteria listed in Appendix 1 will help optimise the entire chain of GM animal modification and breeding.

- Involve so-called "centres of excellence for genetic engineering", also known as Gene Technology Platforms (GTP), in both the planning and generation of GM lines.
  A GTP possesses the knowledge required for providing advice on the best way to create a certain GM animal model, as well as the competence and infrastructure for subsequently generating the GM animal model as efficiently as possible.
  The researcher must belong to or at least have access to such a GTP.

- Allow the Gene Technology Platforms (GTP) to provide an overview of the available GM lines. This requires close collaboration and openness between the different research institutes. The initiative

for this should be taken by the GTPs in collaboration with the animal testing facilities.

- Assign the task of coordinating the breeding process to the animal testing facility and ensure that access to the right expertise and facilities are also provided for this task. The cryopreservation and rederivation strategy is also an integral part of the breeding coordination. Decisions regarding the breeding strategy to be followed and its implementation should be made in close consultation with the responsible researcher and the Animal Welfare Body (IvD).

- Initiate a social dialogue – similar to the Nanopodium platform – regarding the application possibilities of "gene editing". It should be noted that developments concerning genetic modifications are socially sensitive topics, since it is also possible to make genetic modifications in animal species other than mice.

The appendices include two CoPs drawn up by two expert working groups based on the latest insights. The NCad is of the opinion that the use of the criteria and quality standards stated therein will contribute to optimising the entire chain for the modification and breeding of genetically modified animals.

Inhoudsopgave

1. Inleiding 9

2. Adviesvraag 11

3. Overwegingen vooraf 12

4. Advies 13

5. Onderbouwing advies 15

Bijlagen 18
Bijlage 1: *Code of practice voor het genereren van genetisch gemodificeerde dieren* 18
Bijlage 2: *Code of practice voor het fokken van GM-diermodellen* 22

Notities 29

Met dank aan de volgende experts 31

1. Inleiding

Eind 2015 heeft het NCad naar aanleiding van een vraag van de staatssecretaris van Economische Zaken een eerste advies (deel 1)[1] uitgebracht over het reduceren van het aantal genetisch gemodificeerde (GM)-dieren 'In voorraad gedood', met name gericht op vissen en muizen.

In dit eerste deel van het advies is beschreven dat opeenvolgende technologische ontwikkelingen zich in een steeds hoger tempo aandienen en de 'genome-editing' technieken in grote mate de klassieke transgenese methoden zouden kunnen vervangen.
De verwachting was dat hierdoor GM-dieren op doelmatiger wijze gegenereerd konden worden. Echter in de praktijk blijkt dat klassieke en nieuwe transgenese methoden naast elkaar worden toegepast; dit omdat de gene-editing methoden niet per se het beste zijn voor elk nieuw te maken GM-dier.
Uitgaande van het nee-tenzij principe, moet voor elk nieuw te maken GM-dier worden vastgesteld of het onderzoeksdoel niet op een dierproefvrije manier kan worden bereikt.
Een vergunning van de CCD, mede gebaseerd op een ethische evaluatie door een DEC, is het vertrekpunt van het onderliggend advies deel 2. Dit advies gaat dus niet in op de fundamentele vraag of GM-dieren überhaupt gemaakt en gefokt zouden moeten worden.
Het advies omvat kwaliteits- en efficiëntiecriteria die dienen bij te dragen aan het verminderen van het aantal GM-dieren die gedood worden vóór gebruikt te zijn in de fok of in een dierproef, zoals verwoord in de nieuwe registratiesystematiek[2].
Dieren die voor dierproeven worden ingezet, worden veelal voor dat doel gefokt. Voor GM-dieren komt daarbij dat er eerst een genetische modificatie in de ouderdieren (founders) wordt aangebracht en dat pas daarna middels een fokprogramma voldoende dieren met de geschikte genetische modificatie kunnen worden gegenereerd om vervolgens in een dierproef te worden ingezet. Binnen deze fokprogramma's worden ook veel dieren geboren die niet het juiste genetische profiel hebben of om een andere reden ongeschikt zijn voor de beoogde dierproef. Uit de NVWA registratie van 2016 blijkt, dat het aantal GM-muizen dat wordt gedood vóór gebruik in fok of dierproef 232.472 bedraagt tegen 78.209 geregistreerde dierproeven met GM-dieren.[3] Vanuit het beginsel dat een dier een intrinsieke waarde heeft is dit een onwenselijke situatie. Het aantal GM–muizen dat vóór gebruik in fok of dierproef wordt gedood is ongeveer 70% van het totaal aantal in deze categorie geregistreerde dieren. Het is derhalve van belang dat indien het noodzakelijk blijkt om GM-dieren te maken en te fokken dit gebeurt op een zorgvuldige en zoveel mogelijk dieren sparende wijze.

[1] https://www.ncadierproevenbeleid.nl/adviezen-ncad/documenten/rapport/2015/11/1/ncad-advies-in-voorraad-gedood

[2] NVWA registratie proefdieren en dierproeven – tot en met registratiejaar 2013 bestonden de volgende categorieën waaronder dode of gedode dieren werden geregistreerd: dood of gedood in voorraad voor het begin van de proef, dood of gedood tijdens of in het kader van de proef, dood of gedood na afloop van de proef; vanaf het registratiejaar 2014 zijn dat de categorieën: dood of gedood vóór gebruik in fok of dierproef, na gebruik in fok, tijdens of in het kader van de proef, na gebruik van de proef. Bronnen: Toelichting bij de registratie proefdieren en dierproeven 2014

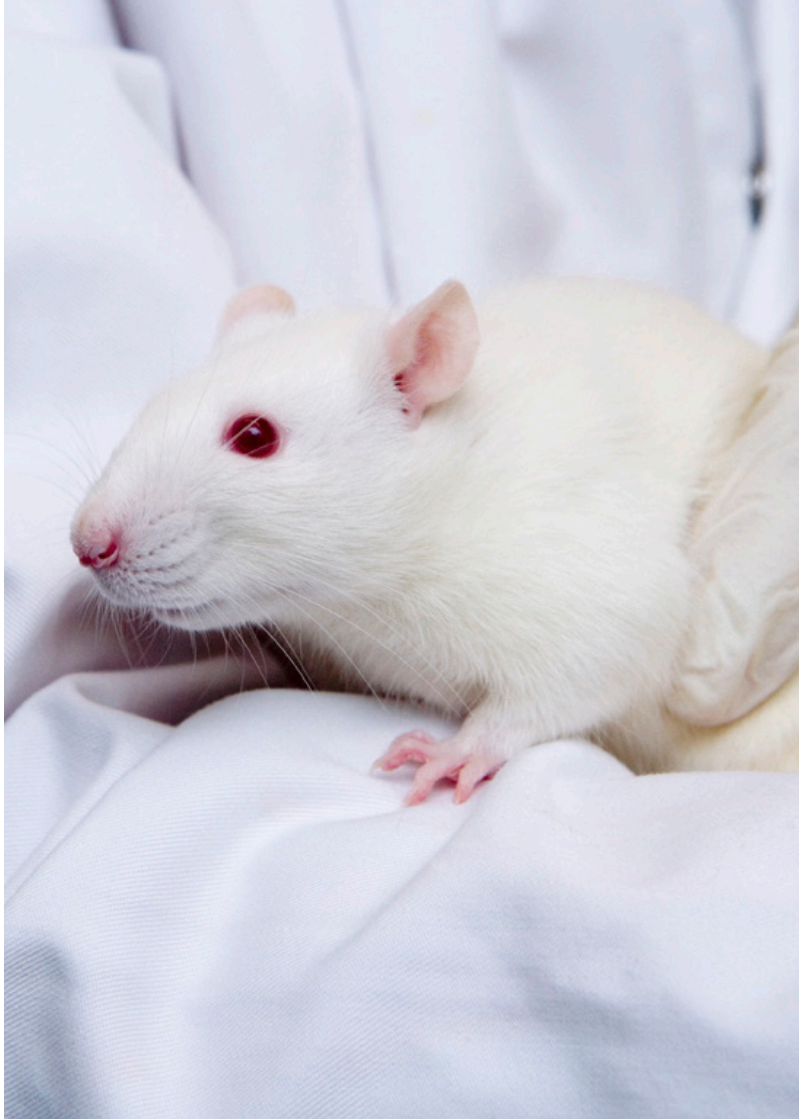
[3] Zodoende 2016 Jaaroverzicht dierproeven en proefdieren van de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit, Utrecht, 2018

Middels twee werkgroepen heeft het NCad de gehele keten van het genereren en fokken van GM-dieren verkend om zicht te krijgen op de achterliggende redenen waarom het aantal GM-dieren dat gedood wordt vóór gebruik in de fok of dierproef zo hoog is. Op basis van deze verkenning zijn efficiëntie- en kwaliteitscriteria opgesteld voor het genereren en fokken van GM-dieren met als doel het aantal dieren dat gedood wordt vóór gebruikt te zijn in de fok of in een dierproef te verminderen.
Naast het bevorderen van de kwaliteit van het genereren en fokken van genetisch gemodificeerde dieren in Nederland dienen de criteria alle betrokken partijen bewust te maken van keuzemomenten waar een reductie van het aantal dieren dat gedood wordt vóór gebruik in fok of dierproef kan worden bereikt. De criteria bieden een handvat voor het maken van goed beargumenteerde keuzes op deze punten.
Zolang het gebruik van GM-dieren en daarmee het genereren en fokken in het vergunningverleningsproces noodzakelijk en aanvaardbaar wordt bevonden, acht het NCad het in het kader van Verfijnen en Verminderen van dierproeven van groot belang dat wordt uitgegaan van de in dit advies beschreven kwaliteits- en efficiëntiecriteria.

2. Adviesvraag

In haar adviesvraag van 31 maart 2015 verzoekt de staatssecretaris van Economische Zaken het NCad om te komen tot een verdieping van efficiëntie- en kwaliteitscriteria bij het generen van genetisch gemodificeerde dieren binnen zogenaamde 'centers of excellence'. Dergelijke criteria dienen de kwaliteit van de fok van genetisch gemodificeerde dieren in Nederland te bevorderen en fokkers bewust te maken voor een mogelijke reductie van het totale aantal dieren welke hiervoor gebruikt worden. Het strekt tot aanbeveling deze criteria in eerste instantie te richten op het generen van genetisch gemodificeerde muizen en vissen (met klassieke en innovatieve methoden) in eigen beheer. De staatssecretaris verzoekt het NCad daarbij het advies van het Regulier Overleg Dierproeven en Alternatieven (RODA) uit 2014 mee te nemen als ook de resultaten van de internationale workshop 'Bred but not used' en het advies van de toenmalige Centrale Commissie Dierproeven (CCD) aangaande gecentraliseerde fok van transgene dieren uit 2011.
Voortbouwend op het advies deel 1: 'Genetisch gemodificeerde dieren in voorraad gedood' uitgebracht in oktober 2015 heeft het NCad voorliggend tweede advies uitgebracht.

Met dit tweede deel wordt invulling gegeven aan de aanbeveling uit het eerste advies, om aanvullende criteria en kwaliteitsnormen op te laten stellen door onderzoeksgroepen c.q. faciliteiten.

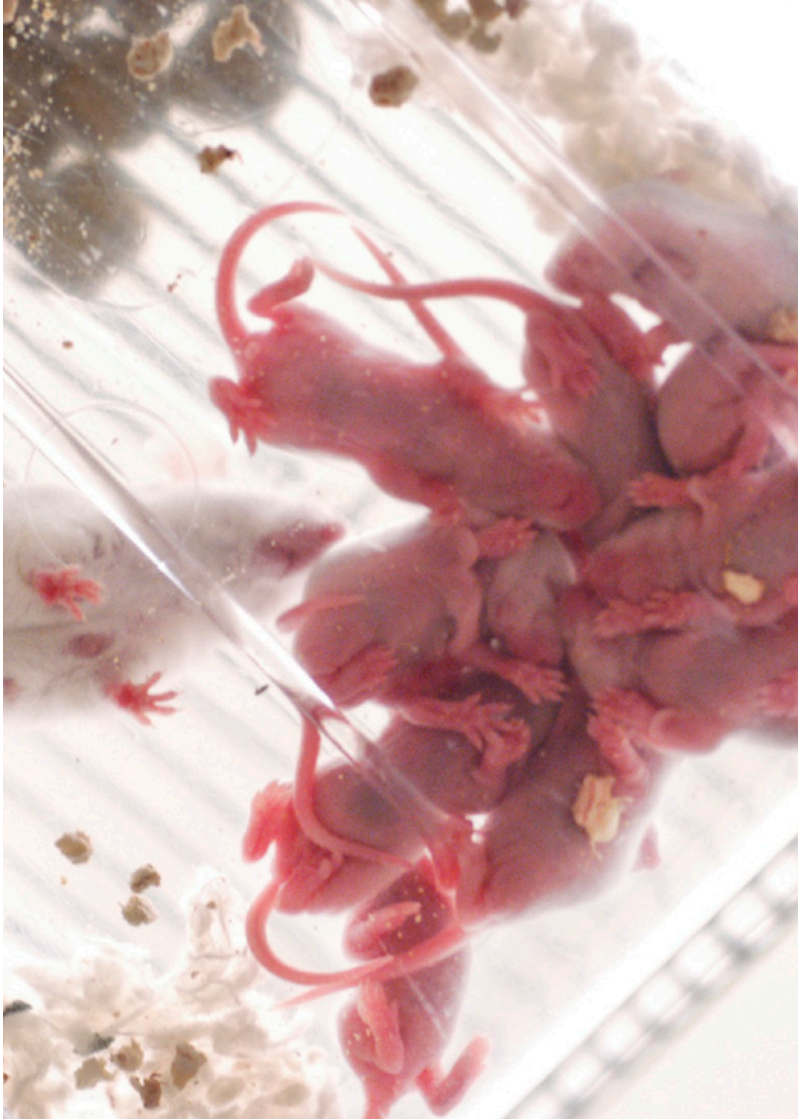


3. Overwegingen vooraf

Het NCad heeft in haar discussies grondig stilgestaan bij de vraag of het uitbrengen van dit advies opportuun is. Dit vanwege het dilemma dat met gene-editing technieken een voor het experiment toegesneden genetisch veranderd dier gemaakt kan worden met minder dieren dan tot nu toe het geval is. Echter, de genome-editing technieken bieden ook nieuwe mogelijkheden om ‘op maat’ gezondheidsvraagstukken te bestuderen. Dit kan leiden tot een toename van het aantal gefokte lijnen en daarmee tot een stijging van het absolute aantal dieren dat voor gebruikt te zijn in fok of dierproef wordt gedood. Deze ontwikkeling sluit niet aan op de beleidsmatige wens om het aantal dieren dat in voorraad wordt gedood in absolute zin te verminderen.

Het NCad heeft na ampele overweging toch gekozen voor het uitbrengen van dit advies omdat het bijdraagt aan het beoogde doel. Immers de verwachting is dat het relatieve aantal dieren dat in voorraad wordt gedood bij implementatie van de bij dit advies gevoegde Code of Practice, zal dalen.

Bovendien geeft het NCad een tweetal adviezen die bovenstaand dilemma trachten te adresseren.



4. Advies

4.1 Adviseer de CCD om de in bijlage 1 en 2 opgenomen Codes of Practice (CoP) als uitgangspunten in de projectvergunningverlening te nemen

Het NCad adviseert de CCD de in bijlage 1 en 2 opgenomen criteria en kwaliteitsnormen te hanteren en de daarin gestelde randvoorwaarden en kaders over te nemen.
Generieke toepassing van de in bijlage 1 vermelde kwaliteits- en efficiëntiecriteria zal bijdragen aan het optimaliseren van alle aspecten[4] van het genereren van GM-dieren en fokken van GM-lijnen.

4.2 Maak het gebruik van zogenaamde 'centres of excellence voor gentechnologie' onderdeel van zowel de planning als het genereren van GM-lijnen

In Nederland is een aantal centres of excellence voor gentechnologie actief. In deze zo te noemen Gene Technology Platforms[5], is de kennis aanwezig om te adviseren over de beste manier om een bepaald GM-diermodel te maken en de competentie en infrastructuur om het GM-diermodel vervolgens zo efficiënt mogelijk te genereren.
De onderzoeker dient te beschikken over of tenminste toegang te hebben tot een GTP.

4.3 Laat de Gene Technology Platforms (GTP) zorgen voor een overzicht van beschikbare GM-lijnen

De zorg voor overzicht waar welke GM-lijnen beschikbaar zijn vereist nauwe samenwerking en openheid tussen de verschillende onderzoekinstituten. Het initiatief hiervoor zou genomen moeten worden door de Gene Technology Platforms (GTPs) samen met de proefdierfaciliteiten.
De GTPs en de onderzoeker zorgen ervoor dat de nieuw gemaakte genetische modificaties en lijnen ook worden aangemeld bij de internationale databases. Het NCad is zich daarbij bewust van beperkende factoren als bescherming van intellectual property en privacy.

4.4 Beleg de fokcoördinatie bij de proefdierfaciliteit en zorg ervoor dat de strategie voor cryopreservatie en rederivatie integraal onderdeel is van de fokcoördinatie

Het NCad adviseert om de fokcoördinatie te beleggen bij de proefdierfaciliteit waarbij de verantwoordelijkheid en zorg voor toegang tot de juiste expertise en faciliteiten binnen deze taak belegd dient te worden. De keuzes over de te volgen fokstrategie en de uitvoering dienen in nauw overleg met de verantwoordelijk onderzoeker en de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) te worden gemaakt.

---

4 Daartoe behoren te worden gerekend: het genereren van genetische gemodificeerde dieren (muizen), het verwerven van genetisch gemodificeerde dieren, cryopreservatie, rederivatie, het fokken van GM-lijnen en het inkruisen en terugkruisen met andere lijnen en stammen.

5 Een Genoom Technologie Platform (GTP) is een (core) faciliteit, publiek dan wel privaat, waarin de kennis en kunde aanwezig is om het hele proces van ontwerp tot realisatie van een GM-diermodel te kunnen begeleiden en uitvoeren. GTPs moeten in staat zijn de processen efficiënt uit te voeren, te kunnen valideren en innoveren. GTPs zijn bereid de expertise te delen met andere platforms.

Het doel daarvan is om de genetische integriteit, kwaliteit en continuïteit van de GM-lijn te garanderen en de fokomvang af te stemmen op het aantal dieren dat nodig is voor experimentele doeleinden.
In bijlage 2 wordt beschreven welke overwegingen een rol moeten spelen bij de keuze van de stadia van het maken en het fokken van een GM-lijn en welke aspecten en kwaliteitscontroles een rol spelen bij zowel cryopreservatie als rederivatie.[6]
De beschreven strategie voor cryopreservatie (en rederivatie) dienen onderdeel te zijn van de fokcoördinatie.

4.5 Entameer een maatschappelijke dialoog over de toepassingsmogelijkheden van 'gene-editing'

Het NCad is, mede gelet op de maatschappelijke gevoeligheid van deze ontwikkelingen, van mening dat een maatschappelijke dialoog geëntameerd moet worden over deze technologische ontwikkeling vergelijkbaar met het 'Nanopodium'[7].
Tevens worden betrokken onderzoekers opgeroepen om bij het opstellen van de streefbeelden, zoals verwoord in het NCad advies Transitie naar proefdiervrij onderzoek van 15 december 2016, de toepassing van deze technologie bij met name 'hogere' diersoorten zowel vanuit hun morele verantwoordelijkheid als vanuit wetenschappelijk oogpunt te beschouwen.

[6] Cryopreservatie is het bewaren van biologisch materiaal (bijvoorbeeld embyo's en sperma) bij zeer lage temperatuur (-196oC).
Rederivatie is het proces waarmee dieren met de gewenste microbiologische status worden verkregen voor verdere fok en gebruik.

[7] Eindrapport Commissie Maatschappelijke Dialoog Nanotechnologie, Verantwoord verder met nanotechnologie, bevindingen maart 2009-januari 2011; https://www.rijksoverheid.nl/documenten/rapporten/2011/02/08/eindrapport-commissie-maatschappelijke-dialoog-nanotechnologie

5. Onderbouwing advies

Sinds het eerste advies 'Genetisch gemodificeerde dieren in voorraad gedood' is gepubliceerd door het NCad, is een aantal van de daarin beschreven adviezen in de praktijk gebracht.

De wijze waarop dierproeven en proefdieren in het jaaroverzicht dierproeven en proefdieren van de NVWA 'Zo Doende' worden gerapporteerd is aangepast sinds 2014. In navolging van het NCad advies zijn de categorieën in de registratie voor dieren die worden gedood vóór gebruik in een dierproef meer onderscheidend:

- Ziekte of andere gezondheidsproblemen
- Ex-fokdieren, ongeschikt voor experimentele doeleinden
- Ongeschikt voor de dierproef vanwege de leeftijd
- Het 'verkeerde' geslacht voor het experiment
- Ongeschikte genetische profiel voor experiment.

In voorgaande registratiejaren werd dit onderscheid in categorieën niet (voldoende) gemaakt. De NVWA rapporteerde de dieren die werden gefokt maar die niet in dierproef werden gebruikt, onder de noemer 'dood of gedood in voorraad'. Dit was een verzamelbegrip voor dieren die om verschillende redenen niet in een dierproef werden ingezet.
Doordat momenteel verschillende categorieën worden geregistreerd is het mogelijk om de effecten van kwaliteitscriteria op de gehele keten van het genereren van GM-dieren tot het uiteindelijke fokken van de geschikte experimentele dieren meer inzichtelijk te maken. Het onderscheid in categorieën maakt duidelijk met welke achterliggende reden een dier wordt gedood.

5.1 Adviseer de CCD om de in bijlage 1 en 2 opgenomen Codes of Practice (CoP) als uitgangspunten in de projectvergunningverlening te nemen

De in de bijlagen opgenomen CoPs zijn volgens de laatste inzichten opgesteld door twee expert werkgroepen.
Het NCad is van mening dat wanneer er sprake is van genetische manipulatie, het aanbrengen van de modificatie en fokken van deze dieren met de grootst mogelijke zorgvuldigheid dient plaats te vinden en de fokomvang wordt afgestemd op het aantal dieren dat daadwerkelijk nodig is voor een experiment. In dat kader beoogt dit advies bij te dragen aan vermindering en verfijning bij het genereren en fokken van GM-dieren.
Het NCad vindt het noodzakelijk dat instellingen de kennis en de middelen hebben, of daar toegang toe hebben, voor het volledig benutten van deze CoP.

5.2 Maak het gebruik van zogenaamde 'centres of excellence voor gentechnologie' onderdeel van zowel de planning als het genereren van GM-lijnen

Voor het genereren van een GM-diermodel dient een onderzoeker of instituut in élke fase van het proces, de beschikking of toegang te hebben tot specialistische kennis. Bijeengebrachte specialistische kennis in een formele of losse organisatiestructuur zou een Gene Technology Platform (GTP) genoemd kunnen worden. Dit is een specialistisch team dat zich constant ontwikkelt, onderzoek uitvoert, innoveert en kennis uitwisselt en beschikt over op de uitvoering van de technieken toegesneden infrastructuur.

Een GTP kan gecentraliseerd zijn in één faciliteit, waarbij alle handelingen worden uitgevoerd door hetzelfde team, of decentraal georganiseerd, waarbij moleculair biologische, embryologische en dierexperimentele expertiseteams tezamen het platform vormen. GTPs moeten aantoonbaar gedegen detail kennis en ervaring in huis hebben om de onderzoeker te kunnen adviseren over de meest geschikte methode om de gewenste GM-stam te genereren en hoe de eenmaal gemaakte GM-stam gefokt dient te worden. GTPs zullen moeten beschikken over de kennis, kunde en infrastructuur c.q. middelen om GM-dieren volgens de laatste inzichten te maken en te karakteriseren. GTPs moeten bereid zijn de expertise te delen met andere platforms en met nieuw te starten initiatieven.

De onderzoeker bepaalt welk GM-diermodel hij/ zij nodig heeft voor zijn/ haar onderzoek. Als is vastgesteld dat het betreffende model niet beschikbaar is, kan door een GTP dat GM-diermodel gemaakt worden, op basis van een verleende vergunning door de CCD. De onderzoeker en de GTP bepalen welke genetische modificatie(s) moet(en) worden aangebracht en met welke techniek(en) dat het beste gedaan kan worden.
Er bestaan bij instellingen voor wetenschappelijk onderzoek reeds transgenesefaciliteiten die als GTP bestempeld kunnen worden. Daarnaast zijn er verschillende commerciële bedrijven die op bestelling op maat gemaakte GM-diermodellen genereren.

5.3 Laat de Gene Technology Platforms (GTP) zorgen voor een overzicht van beschikbare GM-lijnen

Er zou pas tot het maken van een GM-diermodel moeten worden besloten als is uitgesloten dat deze niet al ergens anders is gegenereerd en beschikbaar is. Er bestaan verschillende internationale databases waarin GM-lijnen van de muis en van de rat zijn opgenomen, zoals: de International Mouse Strain Resource (IMSR; **http://www.findmice.org/**), het International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC; **http://www.mousephenotype.org/**) en het Rat Resource and research Center (**http://www.rrrc.us/**) met daarnaast databases voor genen van de muis - Mouse Genome Informatics (**MGI; http://www.informatics.jax.org/**) – en voor die van de rat – de Rat Genome Database (**http://rgd.mcw.edu/**).
De onderzoeksgemeenschap dient zich in te spannen om de gemaakte genetische modificaties aan te melden bij MGI en de GM-lijnen bij IMSR. Daarnaast is het van belang dat tenminste de in Nederland aanwezige GM-diermodellen kunnen worden geraadpleegd, bijvoorbeeld middels een systeem vergelijkbaar met de Mouse locator-UK[8]. De GTPs en proefdierfaciliteiten zijn het best gepositioneerd om zo'n systeem op te zetten en operationeel te maken.

[8] Bugeon L, Rosewell I. 'Mouse locator-UK': a networking tool for academic transgenic research in the UK. *Transgenic Res* 2003;12(5):637.

5.4 Beleg de fokcoördinatie bij de proefdierfaciliteit en zorg ervoor dat de strategie voor cryopreservatie en rederivatie integraal onderdeel is van de fokcoördinatie

Het benoemen c.q. aanwijzen van een of meer fokcoördinatoren binnen een instelling, zoals het NCad heeft aanbevolen in het eerste advies, is door veel instellingen opgevolgd. De concrete invulling van de taak 'fokcoördinatie' behoeft echter nog aandacht.
Dat kan afhankelijk van de organisatie binnen de instelling op vele manieren vormgegeven worden en hangt af van de stappen uit de keten die voor het genereren en fokken van GM-dieren binnen de instelling worden uitgevoerd. Het genereren, het verwerven en/of het fokken van GM-dieren bepalen welke specifieke kennis en kunde binnen de proefdierfaciliteit aanwezig moeten zijn om onderzoekers en Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) volgens de laatste inzichten te kunnen adviseren en ondersteunen.

5.5 Entameer een maatschappelijke dialoog over de toepassingsmogelijkheden van 'gene-editing'

Gene-editing technieken maken het mogelijk om ook in andere diersoorten dan muizen genetische modificaties aan te brengen.
Zie tevens het geschetste dilemma in hoofdstuk 3.

Bijlagen

Bijlage 1: *Code of practice voor het genereren van genetisch gemodificeerde dieren*

1. Inleiding

Wereldwijd neemt het aantal GM-diermodellen in hoog tempo toe. In het algemeen zijn deze verkrijgbaar voor onderzoekers die ze willen gebruiken. Daardoor hoeven bekende GM-diermodellen niet steeds opnieuw geconcipieerd, gemaakt en gekarakteriseerd te worden en is er aansluiting bij de wetenschappelijke literatuur. In het geval een benodigd GM-diermodel niet bestaat of niet verkrijgbaar is, en ook niet effectief d.m.v. kruisingen van bestaande modellen tot stand kan worden gebracht, kan worden overwogen het model te genereren. De rechtvaardiging hiertoe dient duidelijk te worden onderbouwd. De hierna beschreven processtappen kunnen behulpzaam zijn in de onderbouwing.

Het genereren van een GM-diermodel verloopt in een aantal fasen:

1. De wetenschappelijk onderzoeker die voor zijn onderzoeksvraag een nieuw GM-diermodel nodig heeft, is leidend in de keuzes voor wat betreft de DNA-sequenties en soort modificatie(s) die moet(en) worden aangebracht voor het adresseren van de onderzoeksvraag.
2. De onderzoeker moet de noodzaak van het genereren van een nieuw GM-diermodel duidelijk maken aan de hand van een Synthesis of Evidence[9] in het kader van een projectvergunning-aanvraag dan wel onderzoeksplan onder een bestaande projectvergunning voor het genereren van GM-dieren.
3. Vervolgens kan de vraag voor het genereren van het GM-diermodel voorgelegd aan een Gene Technology Platform[10].
4. In overleg met het GTP wordt de keuze gemaakt welke genetische modificatie techniek /methode het meest efficiënt en kansrijk lijkt om de modificatie(s) aan te brengen op de voor het onderzoek benodigde genetische achtergrond.

[9] Synthesis of Evidence in het proefdieronderzoek, Zienswijze van het Nationaal Comité advies dierproevenbeleid (NCad), maart 2016

[10] Een Genoom Technologie Platform (GTP) is een (core) faciliteit, publiek dan wel privaat, waarin de kennis en kunde aanwezig is om het hele proces van ontwerp tot realisatie van een GM-diermodel te kunnen begeleiden en uitvoeren. GTPs moeten in staat zijn de processen efficiënt uit te voeren, te kunnen valideren en innoveren. GTPs zijn bereid de expertise te delen met andere platforms.

2. Voorbereiding/ Intake

2.1 Is er al een geschikt GM-diermodel beschikbaar?

Ga na of de lijn met de gewenste genetische modificatie op de goede genetische achtergrond, ergens in de wereld bestaat en leverbaar is. Dat heeft niet alleen als voordeel dat de lijn niet opnieuw gegenereerd behoeft te worden maar ook dat genotype, fenotype en toepassingen in onderzoek in beeld zijn.

Aanpak:

- Raadpleeg databases, zoals: **www.infrafrontier.eu**, **www.findmice.org**, **www.jax.org**, **www.mousephenotype.org**, **www.komp.org**, **www.rrrc.us**, **rgd.mcw.edu**; collega instituten en de wetenschappelijke literatuur. Het is aan te raden om een GTP te betrekken bij het doorzoeken van de databases en het raadplegen van expert netwerken.
- Indien de GM-lijn beschikbaar is, importeer deze dan als fokdieren of als sperma of embryo's. Afhankelijk van het importbeleid van de ontvangende proefdierfaciliteit dient rekening te worden gehouden met ontvangst in quarantaine dan wel met het doorlopen van een rederivatie-procedure om introductie van ongewenste micro-organismen te vermijden.
- Indien er een GM-lijn beschikbaar is met de gewenst genetische modificatie, maar niet leverbaar is op de gewenst stam achtergrond, overweeg dan of het de voorkeur heeft het model opnieuw te genereren of het bestaande GM-diermodel terug te kruisen op de gewenste achtergrond. Hierbij moet worden gekeken naar de slagingskans, tijdsinvestering en het aantal te gebruiken proefdieren.

2.2 Is er een projectvergunning van de CCD voor het genereren van het GM-diermodel?

Het genereren van GM-dieren is een dierproef volgens de Wet op de dierproeven en mag pas worden uitgevoerd als daar van overheidswege een projectvergunning voor is verleend. Omdat het genereren van een GM-diermodel geen doel op zich is, zal de aanvraag voor het genereren van de GM-dieren altijd in de context van een onderzoeksdoel moeten staan.

Aanpak:

- Raadpleeg de website van de **Centrale Commissie Dierproeven** voor de actuele projectvergunningaanvraagformulieren en de bijbehorende instructie.
- GTPs kunnen voor het genereren van nieuwe modellen ook een brede projectvergunning aanvragen. Elk te genereren model staat in de context van het onderzoek van de eindgebruiker die daar een projectvergunning voor aanvraagt. Dit heeft als voordeel dat de beschreven werkwijzen voor het genereren daarmee onder verantwoordelijkheid van de vergunninghouder van het GTP vallen en uniform beschreven worden. De IvD van de instelling waar het GTP is gevestigd verifieert de concrete aanpak voor elke aanvraag.

3. Inventarisatie van de eigenschappen van het nieuwe GM-diermodel

3.1 Stel vast aan de hand van de eerder genoemde SoE welk type genetische modificatie moet worden aangebracht.

De keuze hiervoor wordt bepaald door de onderzoeksvraag.
De mogelijkheden variëren van overexpressie tot gedeeltelijke, in tijd beperkte, of volledige inactivatie ('transgenen', 'knock-down' en 'knock-out') van een of meerdere genen en betreffen de keuze voor de meest geschikte locatie(s) in het genoom voor het aanbrengen van de gewenste genetische modificatie(s) ('transgenen' en 'knock-in').

3.2 Stel vast hoe de genetische modificatie tot uitdrukking moet komen.

De volgende keuzen worden gemaakt:

- of de genetische modificatie altijd of alleen vanaf of op een gewenst moment tot uitdrukking moet komen (constitutief versus conditioneel);
- of de genetische modificatie in alle cellen van het lichaam tot expressie moet of mag komen of alleen in bepaalde celtypen of organen (constitutief versus conditioneel);
- of expressie alleen onder bepaalde condities moet plaatsvinden en of de expressie van de genetische modificatie aan- en uitgezet moet kunnen worden (conditioneel versus induceerbaar).

3.3 Stel vast welke additionele kenmerken gekoppeld moeten zijn aan de genetische modificatie.

Genetische modificaties leiden niet altijd tot functionele veranderingen die meteen duidelijk zichtbaar of herkenbaar zijn. In die gevallen kan het noodzakelijk en/of wenselijk zijn om 'merkers' aan te brengen samen met de modificatie van het/de gen(en) van interesse. De aan- of afwezigheid van het 'merker' eiwit is dan indicatief voor de expressie van de genetische modificatie.[11] De aanwezigheid van een 'merker' kan ook gewenst zijn wanneer sprake is van een duidelijk fenotype of als enige modificatie om de expressie van een bepaald gen of om bepaalde cellen in het dier te kunnen volgen.

3.4 Stel vast wat het gewenste genotype van het GM-diermodel voor gebruik in het dierexperiment is en wat het genotype van de fokdieren moet zijn indien de lijn niet 'zuiver' (homozygoot) gefokt kan worden met oog op het dierenwelzijn of de productiviteit in de fok.

Bepaald wordt of de genetische modificatie(s) in homo- of heterozygote toestand aanwezig moet(en) zijn en of dat voor de fok van de GM-lijn anders is dan voor de GM-dieren die gebruikt worden voor het dierexperiment. De keuze is mede bepalend voor de route waarlangs de introductie van meerdere modificaties dient plaats te vinden. Wanneer er meerdere geschikte methoden zijn met dezelfde

[11] Er worden ook GM-lijnen gemaakt met alleen expressiemerkers zonder functionele veranderingen.

mate van ongerief moet het beperken van het aantal dierproeven (dieren in experiment) en “dood of gedood voor gebruik in fok of dierproef” leidend zijn.

3.5 Stel vast op welke genetische achtergrond het GM-diermodel gegenereerd moet worden.

Het fenotype van het GM-diermodel wordt medebepaald door de genetische achtergrond waarop de genetische modificatie is aangebracht. De keuze voor de genetische achtergrond wordt daarom bepaald op wetenschappelijke gronden.
Indien de gewenste genetische modificatie reeds aanwezig is in een GM-stam die beschikbaar is, maar waarvan de genetische achtergrond niet geschikt is voor het bereiken van het voorliggende onderzoeksdoel, moet de afweging gemaakt worden de genetische modificatie terug te kruisen naar de gewenste genetische achtergrond of de genetische modificatie opnieuw aan te brengen in de gewenste achtergrond. De beoogde kwaliteit van het eindresultaat en het onvermijdelijke aantal dieren dat hierbij wordt gedood voor gebruik in fok of dierproef zijn leidend bij het maken van die afweging.

4. Ontwerp en productie

Wanneer gedefinieerd is aan welke kenmerken het nieuwe model moet voldoen kan de meest geschikte manier waarop de genetische modificatie moet worden aangebracht worden vastgesteld en kan ook het moleculaire construct c.q. vector, nodig voor het realiseren van de genetische modificatie, ontworpen worden.

Het betreft een aantal processtappen dat afhankelijk is van de stand van de technologie die continu verandert. Een GTP heeft de kennis en kunde in huis om volgens de actuele stand van de techniek GM-dieren te genereren. Vandaar dat geen opsomming van processtappen is opgenomen in deze CoP.

Voor iedere gegenereerde GM-lijn dient de correcte naam in overeenstemming met de internationale regels voor nomenclatuur (**https://www.jax.org/jax-mice-and-services/customer-support/technical-support/genetics-and-nomenclature**) te worden vastgesteld.

Bijlage 2: *Code of practice voor het fokken van GM-diermodellen*

1. Fokcoördinatie

De coördinatie van de fok betreft de fok van proefdieren met het oog op het uitvoeren en bewaken van de specifiek voor de te fokken stam opgestelde fokstrategie ten behoeve van de productie van dieren voor de instandhouding van de stam en voor gebruik in dierproeven.
De fokcoördinatie ziet toe op de juiste benaming en naamvoering van de foklijnen in overeenstemming met de internationale regels voor nomenclatuur (**https://www.jax.org/jax-mice-and-services/customer-support/technical-support/genetics-and-nomenclature**). De fokstrategie is gericht op het bewaken van de genetische integriteit van de stam, het welzijn van de dieren en het voorkomen van vermijdbare fokoverschotten. Cryopreservatie en rederivatie maken onderdeel uit van de fokstrategie.
De fokcoördinatie overziet de gegevens over de fok binnen de instelling en het gebruik van de voortgebrachte dieren voor proeven en analyseert en beoordeelt deze aan de hand van de proefdier(fok) registratie. De fokcoördinatie stelt op basis daarvan de fokstrategie vast of stelt een reeds geïmplementeerde fokstrategie zo nodig bij. Afhankelijk van het type instituut en haar taakstelling is de fokcoördinatie belegd bij een of meerdere personen.
De fokcoördinatie adviseert en ondersteunt de onderzoeker en de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) over en bij het beheer en de uitvoering van de fok.

2. Het verwerven van GM-dieren

Indien sprake is van een GM-lijn met aangetast fenotype dan moet er een projectvergunning voorhanden zijn. Een lijn met een aangetast fenotype is een lijn waarbij bij alle of bepaalde dieren als gevolg van de genetische samenstelling sprake is van een welzijnsaantasting die evenveel of meer pijn, lijden, angst of blijvende schade kan veroorzaken als, dan wel dan het inbrengen van een naald volgens goed diergeneeskundig vakmanschap.
De fok van de GM-lijn kan onderdeel zijn van een projectvergunning met een specifiek onderzoeksdoel. Er kan ook gebruik gemaakt worden van een brede projectvergunning met als het doel het fokken van GM-lijnen met een aangetast fenotype.

2.1 Zelf gegenereerde GM-dieren

Zodra een nieuwe GM-lijn gegenereerd wordt, moet vastgesteld worden of er sprake is van een GM-lijn met een aangetast fenotype (in de zin van welzijnsaantasting). Hiertoe moet gedurende de eerste twee generaties van de nieuwe GM-lijn het welzijn van de dieren gemonitord worden. Dit monitoren is niet vergunningplichtig. Uitgangspunt is daarbij wel dat er voor het monitoren geen handelingen met drempel overschrijdend ongerief uitgevoerd worden.

Zowel de Europese Commissie als de CCD heeft richtlijnen opgesteld voor het uitvoeren van welzijnsmonitoring van een nieuwe GM-lijn.[12]

2.2 Import

GM-dieren kunnen in de onderzoeksfaciliteit geïntroduceerd worden door import van:

- Levende fokdieren
- Embryo's/ sperma/ ovaria/ eicellen al dan niet gecryopreserveerd

Voorbereiding

- Leg de logistiek van het transport vast alsmede de specifiek voor dat transport vereiste administratie. Doe dit in geval van levende fokdieren in samenwerking met een erkend bedrijf gespecialiseerd in de logistiek van (proef)diertransporten.
- Zorg voor eenduidige communicatielijnen tussen aangewezen vertegenwoordigers van de partijen betrokken bij het verzenden, transport en ontvangst van de dieren.
- Zorg ervoor dat de verzender de beschikbare informatie over de dieren c.q. embryo's/ sperma/ ovaria/ eicellen deelt met de ontvanger c.q. de ontvangende proefdierfaciliteit.
- Toon aan dat de bestemming van de dieren c.q. embryo's/ sperma/ ovaria/ eicellen binnen het ontvangende instituut c.q. de proefdierfaciliteit bekend is.
- Leg vast dat passende maatregelen worden genomen ter bescherming van de integriteit van de zending en de omgeving na ontvangst (bijvoorbeeld voor wat betreft de microbiologische kwaliteit).

Ontvangst

Quarantaine

- Ontvang levende dieren in een quarantaine omgeving. 'Nieuwe' fokdieren zijn pas na gedocumenteerde verificatie van de gewenste gezondheidsstatus toelaatbaar in de fok. Dit wordt bepaald aan de hand van de gezondheidsstatus van de kolonies van herkomst en van bestemming, en geborgd door microbiologische screening en/ of rederivatie.
- Controleer en rapporteer de integriteit van de zending bij aankomst (labels, documenten, verpakking).
- Controleer en documenteer de dieren t.a.v.: conditie, aantal, sekseverdeling, etc. en bevestig overeenstemming met de beschrijving van de zending.
- Test het genotype van de dieren voordat extra handelingen plaatsvinden.
- Draag zorg voor een goede en volledige centrale registratie.

Cryogene-opslag

- Controleer en leg vast bij ontvangst of het materiaal nog in de juiste fysieke conditie is (bijvoorbeeld: is het materiaal nog diepgevroren?).
- Zorg ervoor dat het ingevroren materiaal bij ontvangst op de juiste temperatuur is en blijft in de daarvoor aangewezen opslagunit: bewaak de gewenste temperatuur.
- Draag zorg voor een goede en volledige centrale registratie.

[12] http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/corrigendum.pdf
https://www.centralecommissiedierproeven.nl/documenten/formulieren/16/10/13/handreiking-kaders-genetisch-gewijzigde-dieren

2.3 Aankoop

- Stel het beleid vast hoe wordt omgegaan met dieren afkomstig van wettelijk erkende leveranciers en leg dat vast. Onderscheid kan worden gemaakt tussen dieren die direct bestemd zijn voor gebruik in experimenten en dieren die bestemd zijn voor de fok.

3 Het fokken van GM-dieren

Voor iedere GM-lijn wordt de fokstrategie afgestemd op het gebruik van de GM-lijn in het onderzoek, de complexiteit van het gewenste genotype inclusief de genetische achtergrond en de expressie van een fenotype al dan niet van invloed op de biologie van de voortplanting.

3.1 Fokstrategie

- Maak onderscheid tussen onderhoud-, expansie- en productiefok.
- Maak onderscheid tussen fok van GM-lijnen met drempel overschrijdend ongerief en de fok van GM-lijnen zonder drempel overschrijdend ongerief en leg dit vast. De fok van een GM-lijn met drempel overschrijdend ongerief is een dierproef waarvoor een van overheidswege verstrekte projectvergunning noodzakelijk is.
- Voorkom het aanhouden in fok van een GM-lijn zonder uitzicht op gebruik in een experiment. Als de lijn elders verkrijgbaar blijft, dient de fok te worden gestopt. Als het een unieke lijn of kruising betreft, en de uitkomsten van het onderzoek zijn gepubliceerd, dan dient de lijn beschikbaar te blijven, ook voor derden. Cryopreservatie is de aangewezen weg indien anders het vooruitzicht is dat de lijn langdurig in fok aangehouden wordt zonder dat gefokte dieren gebruikt worden in experimenten. Cryopreservatie van embryo's verloopt het meest efficiënt wanneer de lijn nog in productiefok is.
- Voorkom het onnodig fokken van algemeen (commercieel) verkrijgbare GM-stammen. Er kunnen legitieme redenen zijn om toch een eigen fok van zo'n stam op te zetten, zoals dierenwelzijn en speciale karakteristieken van de gebruikte dieren.

- Beëindig de fok van een GM-lijn waarmee wetenschappelijke resultaten zijn behaald en gepubliceerd nadat is vastgesteld dat van die GM-lijn in voldoende mate representatief genetisch materiaal in de vorm van embryo's en/ of sperma en/ of ovaria en/ of ES-cellen is opgeslagen in een (toegankelijke) cryo-bank.
- Stem expansie- en productiefokken af op de geplande afname van dieren (naar genotype, geslacht en leeftijd) voor gebruik in experimenten. Gebruik rekenmodellen voor de inschatting van de minimale omvang van expansie- c.q. productiefok.[13]
- Raadpleeg informatiebronnen, zoals:
  - De eigen gegevens over de fokproductie.
  - Algemene parameters m.b.t. de voortplanting van de achtergrondlijn.
  - Informatie over eventuele afwijkingen van een Mendeliaanse verdeling van genotypen bij het nageslacht.

[13] Breeding strategies for maintaining colonies of laboratory mice: a Jackson Laboratory Resource Manual (www.jax.org).
Efficient breeding of genetically altered animals: assessment framework (http://org.uib.no/dyreavd/Documents/GAA%20tool.pdf)
The Jackson Laboratory Handbook on Genetically Standardized Mice. Bar Harbor, Maine, USA: The Jackson Laboratory, 2009.

3.2 In- en terugkruisen

In- en terugkruisen dragen bij aan het aantal dieren dood of gedood voor gebruik in fok of dierproef.

- Het kan efficiënter zijn om het gewenste GM-diermodel op een andere manier te genereren. Raadpleeg daarvoor een GTP.
  De fokcoördinatie bepaalt uiteindelijk of inkruisen of terugkruisen vermeden kunnen worden.
- Indien voor het terugkruisen een kruisingspartner nodig is van een (WT-)stam die algemeen commercieel verkrijgbaar is, kunnen dieren voor dat doel speciaal worden aangeschaft. Indien er moverende redenen zijn om toch een eigen fok van zo'n stam op te zetten, voorkom dan substamvorming door vervanging van de dieren door nieuw verworven dieren van dezelfde bron c.q. leverancier binnen uiterlijk 10 generaties.

3.3 Fok administratie:

Het optimaliseren van de fokresultaten van een GM-lijn is alleen mogelijk wanneer fokgegevens op een systematische manier continu worden verzameld, vastgelegd en geanalyseerd op een centraal toegankelijke locatie.

- Het registreren van tenminste onderstaande gegevens is daarvoor nodig:
  - De herkomst van de lijn
  - Het genotype en de genetische achtergrond van de stam
  - Het fenotype van de stam (kenmerken en waargenomen afwijkingen)
  - De stamboom

- Fokopbrengst (tussen-nest-tijd; aantal nesten per vrouwtje; aantal pups gespeend per nest; geslachtsverhouding per nest; genotype verdeling)

3.4 Rederivatie

Rederivatie is het proces waarmee dieren met de gewenste microbiologische status worden verkregen voor verdere fok en gebruik. Rederivatie kan worden uitgevoerd middels prepartum hysterectomie gevolgd door het overleggen van pups naar een 'schone' foster die zelf net geworpen heeft, of middels embryotransplantatie. Bij embryotransplantatie worden embryo's van donordieren, vaak na superovulatie, ingebracht bij ontvanger-dieren die eerst schijnzwanger zijn gemaakt door een paring met een steriele man. Rederivatie wordt toegepast wanneer geïmporteerde dieren niet de voor de proeven en /of dierfaciliteit benodigde gewenste microbiologische status hebben. Rederivatie wordt bij voorkeur uitgevoerd nadat bij de geïmporteerde dieren is vastgesteld dat ze het gewenste genotype hebben en de GM-lijn langere tijd gebruikt gaat worden. De ontvangers van de getransplanteerde embryo's hebben minimaal dezelfde gezondheidsstatus als de voor de proeven en dierfaciliteit vereiste status en dienen zelf geschikt te zijn voor microbiologische screening.

- Stel vast welke microbiologische status dient te worden gerealiseerd. Let op onder andere: internationale aanbevelingen, de eisen die het onderzoeksprogramma stelt en de infrastructuur van de faciliteit. Elke faciliteit dient voor de aanwezige dierbestanden een gezondheidsbewakingsprogramma te hanteren *(Bijlage III Richtlijn 2010/63/EU)*.
- Beoordeel de rapportage van de microbiologische status van de te importeren dieren c.q. de zending in de context van het gezondheidsbewakingsprogramma van de kolonie waaruit de te importeren dieren afkomstig zijn.
- Importeer bij enkelvoudige homozygote GM-lijnen bij voorkeur mannetjes van de te importeren GM-lijn. Bij meervoudige GM-lijnen is het raadzaam om zowel mannetjes als vrouwtjes te importeren, deze te kruisen en de embryo's te verzamelen voor transplantatie.
- Gebruik als embryodonoren vrouwtjes met de gewenste genetische achtergrond.
- Verifieer de microbiologische status van de gerederiveerde dieren alvorens ze op te nemen in de kolonie. Dit kan door microbiologische screening van de foster. In afwachting van de uitslag dienen de dieren apart van de bestemmingskolonie gehuisvest te worden.

3.5 Cryogene-opslag

- Bepaal of een GM-lijn moet worden opgeslagen. Beantwoordt daartoe de vraag: is de (modificatie in bepaalde genetische achtergrond) lijn uniek, niet al ergens anders opgeslagen, nog van wetenschappelijk belang of kan de lijn 'eenvoudig' opnieuw gemaakt worden?
- Bepaal welk materiaal van een GM-lijn wordt opgeslagen op basis van: het aantal genetische modificaties en de status van die modificaties van de GM-lijn, de fok-efficiëntie.
- Zorg voor volledige documentatie en registratie van het ingevroren materiaal, de gebruikte invriesmethode en de aanbevolen methode voor ontdooien.

- Neem enkele invriescontroles mee.
- Controleer van iedere ingevroren GM-lijn de vitaliteit.
- Zorg ervoor dat het opgeslagen materiaal van een GM-lijn tenminste gelijkelijk verdeeld is over twee fysiek van elkaar gescheiden locaties, zodat in geval van calamiteit op tenminste één locatie de helft van het materiaal nog beschikbaar is.

Embryo's

Een embryo bevat de dubbele set chromosomen (diploïd genoom) c.q. het complete genoom van de GM-lijn. Daarom heeft deze benadering de voorkeur voor de cryogene-opslag van GM-lijnen met meerdere genetische modificaties. Per lijn zullen doorgaans minimaal enkele honderden tot wel 500 embryo's worden ingevroren. Dit vergt aanzienlijke aantallen donormuizen. Om veel embryo's van een donor te krijgen kan superovulatie worden toegepast door (pre-puberale) vrouwtjes met hormonen te behandelen.

Cryopreservatie van gameten

Mannelijke (sperma) of vrouwelijke gameten (eicellen en ovariumweefsel) bevatten slechts een enkele set chromosomen (haploïd genoom). Na ontdooien wordt sperma samengebracht met verse of ontdooide eicellen (meestal afkomstig van de wildtype achtergrondlijn) en ontdooide eicellen met vers of ontdooid sperma (meestal afkomstig van de wildtype achtergrondlijn). De resulterende embryo's worden geïmplanteerd in schijndrachtige ontvanger dieren. Ontdooid ovariumweefsel wordt getransplanteerd in een ontvanger die vervolgens gedekt wordt door een mannetje van de gewenste achtergrondlijn. De cryopreservatie van gameten is vooral geschikt voor de cryogene-opslag van GM-lijnen met één genetische modificatie. Als er sprake is van een combinatie van modificaties dient de fok na de revival van de lijn allereerst gericht te zijn op het verkrijgen van de gewenste fokdieren, bij voorkeur homozygoot maar indien nodig heterozygoot.

Embryonale stamcellen met de gewenste modificatie

Deze benadering is alleen een bruikbaar alternatief voor het invriezen van embryo's en gameten als de genetische achtergrond van de stamcellen dezelfde is als de gewenste genetische achtergrond van het GM-diermodel. Is dit niet zo, dan is terugkruising onvermijdelijk (zie 3.2) en dat kost veel tijd en extra dieren. In die gevallen dienen embryo's, sperma of ovariumweefsel ingevroren te worden.

Notities

Met dank aan de volgende experts

Het NCad maakt bij het opstellen van haar adviezen dankbaar gebruik van experts uit binnen- en buitenland. Ook worden belanghebbenden en ketenpartners geconsulteerd.
Voor de beantwoording van deze adviesvraag heeft het NCad werkgroepen met experts uit het werkveld ingesteld met het verzoek Codes of Practice op te stellen.
De geraadpleegde experts zijn geen co-auteurs van dit NCad advies en kunnen op bepaalde punten een mening hebben die afwijkt van hetgeen het NCad in dit advies en in de Codes of Practice presenteert.

J.F.W. Baller,
K.M. Brachel Bsc,
Dr. M. L. Breuer,
Prof. dr. V.M. Christoffels,
J.M. Fentener van Vlissingen DVM, PhD, Dip. ECLAM,
Prof. dr. J. Gribnau,
H. van Herck DVM, PhD, Dip. ECLAM,
Dr. I.J.G. Huijbers,
Dr. R. P. van Os PhD,
dr. M. van Roon.

Dit is een publicatie van het Nationaal Comité advies dierproevenbeleid (NCad)
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
0900 2800028
NCad@minlnv.nl
www.NCadierproevenbeleid.nl

Publicatiedatum: juni 2018
Publicatienummer: 201820

Het NCad is ingesteld voor de bescherming van dieren die worden gebruikt voor wetenschappelijke doeleinden en voor onderwijs. Het NCad brengt zichtbare verbeteringen tot stand gericht op het vervangen, verminderen en verfijnen (3V's) van dierproeven en de ethische toetsing daarvan om daarmee het proefdiergebruik te minimaliseren, zowel nationaal als internationaal. De ethische toetsing van dierproeven en het Vervangen, Verminderen en verfijnen (3V's) daarvan staan daarbij centraal.