An das

Regierungspräsidium Karlsruhe

- Referat 35 -

Schlossplatz 1-3

76247 Karlsruhe

[ ]  **Antrag auf Genehmigung eines Versuchsvorhabens gemäß § 8 Abs. 1**

 **Tierschutzgesetz**

[ ]  **Antrag auf Genehmigung eines Versuchsvorhabens im vereinfachtem**

 **Genehmigungsverfahren gemäß § 8a Abs. 1 Tierschutzgesetz**

[ ]  **Anzeige von Eingriffen und Behandlungen an Zehnfußkrebsen gemäß**

 **§ 8a Abs. 3 Tierschutzgesetz**

Anlagen:

1. Stellungnahme des Tierschutzbeauftragte\*n

2. Datenblatt für genetisch veränderte Tiere

3. Formblatt „Angaben zur biometrischen Planung“ oder statistisches Gutachten

4. ggf. Score Sheet

5. ggf. wissenschaftliche Beurteilung unabhängiger Dritter

6. Personenbögen einschließlich Nachweise über Studium, Ausbildung, versuchstierkundliche Kurse (erforderlich für alle beteiligten Personen)

7. Nichttechnische Projektzusammenfassung (NTP) als Ausdruck

 (nicht erforderlich im vereinfachten Genehmigungsverfahren)

 <https://www.animaltestinfo.de/antragstellung/>

8. 6 Kopien für die Kommission gem. § 15 TierSchG ab Nr. 2 des Formblatts mit den Anlagen 1 - 5 (nicht erforderlich im vereinfachten Genehmigungsverfahren)

Hinweise:

- Das Einreichen bei der Genehmigungsbehörde hat über den Tierschutzbeauftragte\*n der Einrichtung zu erfolgen.

- Alle Paragrafenangaben beziehen sich auf das Tierschutzgesetz (TierSchG) bzw. die Tierschutz-Versuchstierverordnung (TierSchVersV) in der jeweils geltenden Fassung.

- Mit Unterschrift bestätigen die beteiligten Personen, dass die einschlägigen gesetzlichen Bestimmungen des TierSchG und der TierSchVersV bekannt sind und willigen ein, dass die Genehmigungsbehörde in erforderlichem Umfang Daten, die sich aus den Antragsunterlagen oder der Versuchsdurchführung ergeben, in Datensammlungen führt und soweit es zur Durchführung des Tierschutzgesetzes erforderlich ist, an andere staatliche Stellen übermittelt.

Informationen zum Schutz personenbezogener Daten, die das Regierungspräsidium Karlsruhe verarbeitet, finden Sie auf unserer Internetseite unter Datenschutz: „35-05 Genehmigungs- und Anzeigeverfahren für Versuche an lebenden Tieren“

**1 Personelle und organisatorische Voraussetzungen**

1.1 Leiter\*in

|  |  |
| --- | --- |
| Name: |  |
| Dienstliche Anschrift: |  |
|  Telefon: |  |
| E-Mail: |  |

[ ]  Personenbogen liegt bei

1.2 Stellvertretende\*r Leiter\*in

|  |  |
| --- | --- |
| Name: |  |
| Dienstliche Anschrift: |  |
| Telefon: |  |
| E-Mail: |  |

☐ Personenbogen liegt bei

1.3 Personen, die das Versuchsvorhaben geplant haben

|  |  |
| --- | --- |
| Name: |  |
| Dienstliche Anschrift: |  |
| Telefon: |  |
| E-Mail: |  |

☐ Personenbogen liegt bei

1.4 Personen, die im Rahmen der Versuchsdurchführung Eingriffe oder Behandlungen an Tieren durchführen sowie Tötungen an Tieren durchführen und deren Tätigkeit im Rahmen der Versuchsdurchführung (außer Betäubung) angezeigt werden. (weitergehende Angaben zu den einzelnen Personen siehe Personenbogen)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Name, Vorname | Tätigkeit (Eingriffe/Behandlungen) | Dienstliche Anschrift (falls von Antragssteller\*in abweichend) |
| bei der zuständigen Tierschutzbeauftragten zu erfragen |  | IBF, INF 347, 69120 HD |
|  |  |  |

1.5 Personen, die Betäubungen durchführen oder die Durchführung der Betäubung beaufsichtigen (weitergehende Angaben zu den einzelnen Personen siehe Personenbogen)

|  |  |
| --- | --- |
| Name, Vorname | Dienstliche Anschrift (falls von Antragssteller\*in abweichend) |
| bei der zuständigen Tierschutzbeauftragten zu erfragen  | IBF, INF 347, 69120 HD |
|  |  |

1.6 Personen, die bei Versuchsvorhaben zur Aus-, Fort- und Weiterbildung die Lehrinhalte vermitteln bzw. in deren Anwesenheit und unter deren Aufsicht das Versuchsvorhaben durchgeführt wird (weitergehende Angaben zu den einzelnen Personen siehe Personenbogen)

|  |  |
| --- | --- |
| Name, Vorname | Dienstliche Anschrift (falls von Antragssteller\*in abweichend) |
|  |  |

1.7 Personen, die bei Versuchsvorhaben zur Aus-, Fort- und Weiterbildung ausgebildet werden (weitergehende Angaben zu den einzelnen Personen siehe Personenbogen)

|  |  |
| --- | --- |
| Name, Vorname | Dienstliche Anschrift (falls von Antragssteller\*in abweichend) |
|  |  |

1.8 Berechtigung der Personen zur Benutzung der Einrichtung, in der die Tierversuche durchgeführt werden

[x]  Ja, die genannten Personen sind an der Einrichtung beschäftigt.

[ ]  Nein, die genannten Personen sind nicht an der Einrichtung beschäftigt, sie sind aber mit Zustimmung der verantwortlichen Leitung der Einrichtung zur Benutzung der Einrichtung befugt.

 Anmerkungen:

1.9 Name und Qualifikation der für die medizinische Versorgung der Tiere verantwortlichen Personen (weitergehende Angaben zu den einzelnen Personen siehe Personenbogen).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Name, Vorname | Beruf | Qualifikation |
| Dr. Kristianna BeckerDr. Susanne SerbaDr. Sabine Soltek | Tierärztinnen | FachtierärztinnenVersuchstierkunde |

1.10 Sachkundige Person bzw. Tierärztin/Tierarzt, die/der nach Abschluss des Versuchs die überlebenden Tiere gem. § 28 TierSchVersV beurteilt. Handelt es sich um Primaten, Einhufer, Paarhufer, Hunde, Hamster, Katzen, Kaninchen, Meerschweinchen sind diese unverzüglich einem Tierarzt vorzustellen.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Name, Vorname | Dienstliche Anschrift (falls von Antragssteller\*in abweichend) | Qualifikation |
|  |  |  |
|  |  |  |

1.11 Tierschutzbeauftragte\*r

|  |  |
| --- | --- |
| Name: |  |

1.12 Ort der Tierhaltung während des Versuchs (Anschrift, Gebäude/Raumnummer)

Interfakultäre Biomedizinische Forschungseinrichtung
INF 347
69120 Heidelberg

1.13 Ort der Versuchsdurchführung (Anschrift, Gebäude/Raumnummer) und gegeben falls Beschreibung des Transports zwischen den Einrichtungen

Interfakultäre Biomedizinische Forschungseinrichtung
INF 347
69120 Heidelberg

1.14 Werden die Tiere während des gesamten Versuchs gemäß § 1 Absatz 1 Nr. 1 TierSchVersV gehalten?

[ ]  Ja

[x]  Nein, ein Antrag auf Genehmigung einer Ausnahme nach § 1 Abs. 2 TierSchVersV (Versuchsspezifische Haltungsformen) wird hiermit gestellt.

Wenn nein, wissenschaftliche Begründung, dass die abweichende Haltungsform im Hinblick auf den Zweck des Tierversuchs unerlässlich ist, oder aus Gründen des Tierschutzes oder der Tiergesundheit erforderlich ist (z.B. Einzelhaltung, Stoffwechselkäfig, Futter-/Wasserentzug, Versuche im Freiland):

Die vasektomierten Böcke können ausserhalb der Verpaarungen nur einzeln gehalten werden.

Die Empfängerweibchen müssen einzeln gehalten werden, da nur so die Nachkommen explizit einem Weibchen zugeordnet werden können.

1.15 Vorgesehener Beginn (Datum) und voraussichtlicher Dauer (maximal 5 Jahre) des Versuchsvorhabens

☐ Beginn sofort nach Erhalt der Genehmigung oder

|  |  |
| --- | --- |
| Datum des Beginns: |  |
| Dauer: |  |

1.16 Wie wird das Versuchsvorhaben finanziert?

[ ]  Durch Eigenmittel.

[ ]  Förderung durch öffentliche Drittmittelgeber (z.B. Bundesministerium für Bildung und Forschung oder Deutsche Forschungsgemeinschaft).

[ ]  Förderung durch private Drittmittelgeber (z.B. von der Pharmazeutischen Industrie).

1.17 Zur Vorlage vor der Kommission nach § 15 TierSchG wird auf die Anonymisierung dieses Genehmigungsantrags verzichtet. (Im Falle einer gewünschten Anonymisierung ist die antragstellende Person dafür verantwortlich, dass ab Punkt 2 keine personenbezogenen Daten enthalten sind.)

[ ]  Ja

[ ]  Nein

1.18 Antragsteller\*in, Anschrift der Einrichtung (Institut, Klinik, Firma o.ä.):

|  |  |
| --- | --- |
| Name: |  |
| Dienstliche Anschrift: |  |
| Telefon: |  |
| E-Mail: |  |

1.19 Rechnungsanschrift

|  |
| --- |
|  |

1.20  **NTP-ID** (nicht erforderlich im vereinfachten Genehmigungsverfahren)

|  |
| --- |
|  |

Verpflichtungserklärung:

Mit der Unterschrift verpflichten sich die Leitung und die Stellvertretung, die Verantwortung für die Einhaltung der Vorschriften des Tierschutzgesetzes, der Tierschutz-Versuchstierverordnung und weiterer einschlägiger Rechtsvorschriften sowie der Auflagen der zuständigen Behörden zu übernehmen und die Aufzeichnungspflicht gemäß § 9 Abs. 5 TierSchG i.V. mit § 29 TierSchVersV zu beachten.

Gleichzeitig wird die Kenntnis des Tierschutzgesetzes und der Tierschutz-Versuchstierverordnung bestätigt.

|  |  |
| --- | --- |
| Ort, Datum: |  |

|  |  |
| --- | --- |
| Unterschrift Antragsteller\*in: |  |

|  |  |
| --- | --- |
| Unterschrift verantwortliche\*r Leiter\*in: |  |

|  |  |
| --- | --- |
| Unterschrift stellvertretende\*r Leiter\*in: |  |

|  |  |
| --- | --- |
| Unterschrift Tierschutzbeauftragte\*r: |  |

Die Informationen zur Erhebung von personenbezogenen Daten bei der betroffenen Person nach Artikel 13 DS-GVO können Sie unserer Homepage unter folgendem Link entnehmen: <https://rp.baden-wuerttemberg.de/datenschutz/>

**2. Angaben zum Versuchsvorhaben**

2.1 Bezeichnung des Versuchsvorhabens (maximal 50 Zeichen)

|  |
| --- |
| Generierung von .....mittels Zytoplasma / Pronukleus Injektion (unzutreffendes bitte steichen)\* |

 *\*Begründung: Bei CRISP/Cas9 und anderen Nucleasen ( Zinkfinger, Talens) wird i.d.R. in das Zytoplasma injiziert. Bei Plasmiden, BAC, Cosmide wird i.d.R. in den Pronukleus Injiziert.*

2.2 Rechtsgrundlage des vereinfachten Genehmigungsverfahrens bei Versuchsverfahren gemäß § 8a Abs. 1 Tierschutzgesetz (TierSchG)

 entfällt

2.3 Zweck des Versuchsvorhabens bei Versuchsvorhaben gemäß § 8 Abs. 1 Tierschutzgesetz (TierSchG)

[ ]  Grundlagenforschung

[ ]  Vorbeugung, Erkennung oder Behandlung von Krankheiten, Leiden, Körperschäden oder körperlichen Beschwerden bei Menschen und Tieren

[ ]  Erkennen oder Beeinflussen physiologischer Zustände oder Funktionen bei Menschen oder Tieren

[ ]  Förderung des Wohlergehens von Tieren oder Verbesserung der Haltungsbedingungen von landwirtschaftlichen Nutztieren

[ ]  Schutz der Umwelt im Interesse der Gesundheit oder des Wohlbefindens von Menschen oder Tieren

[ ]  Entwicklung und Herstellung sowie Prüfung der Qualität, Wirksamkeit oder Unbedenklichkeit von Arzneimitteln, Lebensmitteln, Futtermitteln oder anderen Stoffen oder Produkten

[ ]  Prüfung von Stoffen oder Produkten auf ihre Wirksamkeit gegen Schädlinge

[ ]  Forschung im Hinblick auf die Erhaltung der Arten

[ ]  Aus-, Fort- oder Weiterbildung

[ ]  Gerichtsmedizinische Untersuchungen

3 Beschreibung und wissenschaftliche Rechtfertigung des Versuchsvorhabens einschließlich des o.g. Zwecks

4 Begründete Darlegung, weshalb das Versuchsvorhaben aus wissenschaftlicher Sicht bzw. bei Versuchsvorhaben zur Aus-, Fort- und Weiterbildung aus pädagogischer Sicht unter Berücksichtigung des jeweiligen Standes der wissenschaftlichen Erkenntnisse unerlässlich ist

5 Wissenschaftlich begründete Darlegung, dass der Versuchszweck nicht durch andere Methoden oder Verfahren (z. B. Zellkulturen, isolierte Organe, Meta-Analyse klinischer Daten, filmische Darstellung etc.) als den Tierversuch erreicht werden kann sowie Darlegung der Prüfung, ob zur Erreichung des angestrebten Ergebnisses eine andere Methode oder Versuchsstrategie ohne Verwendung eines lebenden Tieres zur Verfügung steht und die nach dem Unionsrecht anerkannt ist

6 Wissenschaftlich begründete Darlegung, dass das angestrebte Versuchsergebnis trotz Ausschöpfung der zugänglichen Informationsmöglichkeiten noch nicht hinreichend bekannt ist

7 Ausschöpfung zugänglicher Informationsmöglichkeiten:

 Welche Informationsmöglichkeiten wurden genutzt?

 (unter Nr. 20 ist das Literaturverzeichnis einzutragen)

 Schlüsselwörter:

 Art der Recherche:

 Verwendete Datenbanken:

 Zeitpunkt der Recherche:

8 Handelt es sich um einen Doppel- oder Wiederholungsversuch?

[ ]  Nein

[ ]  Ja

 Wenn Ja: Wissenschaftlich begründete Darlegung, dass die Überprüfung bereits bekannter Versuchsergebnisse durch das beantragte Versuchsvorhaben unerlässlich ist

9 Art und Anzahl der Tiere

|  |  |
| --- | --- |
| Tierart | Gesamttierzahl pro Tierart (inkl. Reservetiere) |
| Maus | 312 bzw. 353 (korrekte Zahl siehe 10.3.) |
|  |  |

9.1 Wissenschaftliche Rechtfertigung für die Wahl der vorgesehenen Tierart(en)

 Die Technik der Erstellung von genetischen Veränderungen ist in Mäusen sehr gut etabliert und wird seit Jahrzehnten erfolgreich angewendet. Da die generierten Mäuse später in Vorhaben nach §4 bzw. §7 eingesetzt werden sollen, bei welchem die Verwendung von Mäusen geplant ist, ist eine Verwendung von anderen Spezies, wie z.B. Fischen, nicht möglich.

9.2 Vorgesehenes Alter (Lebensabschnitt) der Tiere und wissenschaftliche Rechtfertigung für die Wahl des Alters

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Geschlecht | Verwendung | Alter (in Wochen) |
| weiblich | Spender | ca. 3 – 16 |
| weiblich | Empfänger | ca. 10 – 24 |
| männlich | Bock vasektomiert | ca. 8 – 72  |
| männlich | Bock intakt | ca. 8 – 28  |

 Begründung:
Die Tiere zeigen in dem angegeben Alter die beste Zuchtperformance.

9.3 Vorgesehenes Geschlecht der Tiere und wissenschaftliche Rechtfertigung für die Wahl des Geschlechts

 Geschlecht: [x]  männlich [x]  weiblich

 wissenschaftliche Rechtfertigung:

 Zur Generierung sind sowohl Männchen als auch Weibchen notwendig

9.4 Rasse oder Stamm und ggf. Sublinie (einschließlich Mutationen) nach der internationalen wissenschaftlichen Nomenklatur; bei genetisch veränderten Linien Beschreibung der Genetik (für jede genetisch veränderte Linie ein „Datenblatt für genetisch veränderte Tiere“ beifügen)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Nr. | Nomenklatur | Beschreibung | Begründung  | Belastung |
| 1 | C57Bl/6NC57Bl/6J | Inzuchtstamm | Spenderweibchen | keine |
| 2 | Swiss | Auszuchtstamm | Empfängerweibchen | keine |
| 3 | B6D2/F1 | Hybridinzuchtstamm | Böcke | keine |

10 Begründung für die Anzahl der Tiere einschließlich Angaben zur biometrischen Planung

Die Anzahl der Tiere basiert auf gemeinsamen Berechnungen des DKFZ und der IBF.

10.1 Versuchstyp

A [ ]  Technisch erforderlicher Vorversuch, bei dem die Tiere der Gewinnung des Materials dienen und selbst nicht im Versuch verwendet werden (z.B. Spendertiere)

B [ ]  Hypothesen generierender Versuch mit geringen Tierzahlen (maximal 6 Tiere je Gruppe), bei dem noch keine spezifizierten Hypothesen geprüft werden können (Pilot-Versuch, Grundlagenklärung)

C [ ]  Hypothesen überprüfender Versuch (pro Teilversuch ein Formblatt „Angaben zur biometrischen Planung“ beilegen, alternativ biometrisches Gutachten)

D [x]  Sonstige nicht-hypothesengenerierende Versuche (z.B. Versuchsvorhaben zu Aus-, Fort- und Weiterbildungszwecken)

10.2 Im Falle von Auswahl A (Materialgewinnung), B (Pilotstudie) oder D (Versuche zu Aus- Fort- und Weiterbildungszwecken) Erläuterung der beantragten Tierzahl

Zur Herstellung von Tieren, die eine Veränderung in der Keimbahn aufweisen, werden pro Targeting Konstrukt 24 Weibchen als Embryospender, 12 Weibchen als Empfänger und 4 vasektomierte Böcke benötigt.

Vasektomierte Böcke:

Für die Erzeugung von scheinträchtigen Ammen, in die die befruchteten, mikroinjizierten Zygotetn implantiert werden, werden vasektomierte Mäuse benötigt. Diese können bis zum Nachlassen der Libido eingesetzt werden. Hierfür werden 4 vasektomierte Männchen benötigt.

Spendertiere, Empfängertiere:

Pro Generierung werden 24 Mäuse für die hormonelle Superovulation und die Entnahme von befruchteten Zygoten benötigt. Für den Transfer der manipulierten Zygoten werden weitere 12 Tiere gebraucht. In der Regel ist mit 3-12 Foundertieren zu rechnen.

[ ]  **Zytoplasma-Injektion (CRISPR, Zinkfinger, Talens etc.)**

Aus den Würfen der 12 Transferammen werden ca. 72 Nachkommen erwartet. Insgesamt werden hiervon im Schnitt 13 Foundertiere (F0) zum Aufbau einer Zucht eingesetzt werden können.

Bei einer durchschnittlichen Wurfgröße von 10 Tieren sind 130 Nachkommen zu erwarten. Erfahrungsgemäß werden davon ca. 11 für die F2 weiterverpaart, so dass hier weitere 110 Nachkommen angenommen werden müssen.

[ ]  **Pronucleus-Injektion (Plasmid, BAC, Cosmid etc.)**

Aus den Würfen der 12 Transferammen werden ca. 72 Nachkommen erwartet. Insgesamt werden hiervon im Schnitt 12 Foundertiere (F0) zum Aufbau einer Zucht eingesetzt werden können.

Bei einer durchschnittlichen Wurfgröße von 10 Tieren sind 120 Nachkommen zu erwarten. Erfahrungsgemäß werden davon ca. 8 für die F2 weiterverpaart, so dass hier weitere 80 Nachkommen angenommen werden müssen.

10.3 Tabellarische Übersicht über die Versuchs- und Kontrollgruppen inkl. Tierzahlen

[ ]  **Zytoplasma-Injektion (CRISPR, Zinkfinger, Talens etc.)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Gruppe | Behandlung | Anzahl |
| Generierung transgene Tiere | Spendertiere weiblich | 24 |
| Empfängertiere weiblich | 12 |
| Vasektomierte Böcke | 4 |
| Foundertiere F0, F1, F2 | 72,130, 110 | 312 |
| **Summe** |  | **352** |

[ ]  **Pronucleus-Injektion (Plasmid, BAC, Cosmid etc.)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Gruppe | Behandlung | Anzahl |
| Generierung transgene Tiere | Spendertiere weiblich | 24 |
| Empfängertiere weiblich | 12 |
| Vasektomierte Böcke | 4 |
| Foundertiere F0, F1, F2 | 72,120, 80 | 272 |
| **Summe** |  | **312** |

11 Herkunft der Tiere

11.1 Handelt es sich um eigens für Tierversuche gezüchtete Tiere?

[x]  Es handelt sich um eigens für Tierversuche gezüchtete Tiere.

 Die Tiere sind nicht eigens zu Versuchszwecken gezüchtet worden, sondern

[ ]  Es handelt sich um Tierarten gemäß § 19 Abs. 2 TierSchVersV (Pferde, Rinder, Schweine, Schafe, Ziegen, Hühner, Tauben, Puten, Enten, Gänse, Fische ausgenommen Zebrabärblinge).

[ ]  Für das Versuchsvorhaben ist die Verwendung von nicht zu Versuchszwecken gezüchteten Tieren erforderlich. Hiermit wird eine Ausnahmegenehmigung nach § 19 Absatz 1 Satz 2 TierSchVersV beantragt.

 Wissenschaftliche Begründung:

[ ]  Die Tiere sollen aus der Natur entnommen werden. Der Zweck des Versuchs kann nicht durch die Verwendung anderer Tiere erreicht werden. Hiermit wird eine Ausnahmegenehmigung nach § 20 Absatz 1 Satz 2 TierSchVersV beantragt.

 Wissenschaftliche Begründung:

11.2 Name und Anschrift des Züchters (bzw. sonstige Herkunft der Tiere) und wissenschaftliche Rechtfertigung für die gewählte Herkunft

Spender, Empfänger, Böcke: Die Tiere werden von kommerziellen Züchtern bezogen wie z.B. Charles River, Janvier u.a.

 eigene Zucht x ja, ab F0 X nein

Wissenschaftliche Rechtfertigung: kommerzieller Züchter mit entsprechender Genehmigung nach TierSchG, eigene Zucht in §11 genehmigter Haltung

11.3 Die vorgesehenen Tiere wurden bereits in einem Versuchsvorhaben im Sinne des § 18 TierSchVersV verwendet

[x]  Nein: Spender-, Empfängerweibchen, Founder

[x]  Ja: Böcke

 Wenn Ja, Beschreibung der Art, Dauer und Belastung der bislang erfolgten Eingriffe, Aktenzeichen des vorhergehenden Versuchsvorhabens und Angabe der zuständigen Behörde. (Im Falle der Verwendung von Primaten Übernahmemeldungen beifügen)

 Vasektomierte Böcke werden wenn immer möglich bei unterschiedlichen Generierungen eingesetzt, um die Tierzahl zu reduzieren. Die Gesamtbelastung ändert sich dadurch nicht.

12 Versuchsdurchführung

12.1 Beschreibung der praktischen Durchführung aller Eingriffe und Behandlungen, bezogen auf die jeweilige Versuchsgruppe in ihrer Art und Dauer und unter Berücksichtigung des Tötungsverfahrens.

ES-Zellinjektion zur Generierung von Chimären

a) Verpaarung der superovulierten[[1]](#footnote-1) Spenderweibchen mit Böcken desselben Stammes bzw. F1-Hybridtyps. Am nächsten Morgen Prüfung auf Vaginalpropf, nach 3.5 Tagen Tötung der positiven Weibchen durch CO2-Inhalation. Entnahme und Spülung des Eileiters (Morulae) oder Uterus (Blastozysten). Mikroinjektion der ES-Zellen in das Perivittelinspalt (Morulae) oder Blastocoel (Blastozysten).

b) Transfer der Blastozysten in den Uterus von narkotisierten (Inhalationsnarkose: Isofluran, Analgetikum 1x Metamizol 200 mg/kg s.c.), scheinträchtigen2 Empfängerweibchen am Tag 3.5 pc. Dazu wird den Tieren dorsal (nach Rasur und Desinfektion der OP-Stelle) eine ca. 7 mm lange Längsinzision gesetzt, nacheinander die Uterushörner an die Oberfläche gebracht und nach Durchstechung der Uteruswand mit einer 0,33G Kanüle die Transferpipette durch das Einstichloch in den Uterus geschoben. Die Blastozysten werden dann vorsichtig in das Uterushorn gespült. Nach Rückverlagerung des Uterus nebst Ovidukt und Ovar in den natürlichen Situs wird die Rückendecke mit resorbierbarem Faden vernäht und die Haut mit Wundklammern verschlossen. In der Regel sind postoperative Antibiotikagaben nicht erforderlich. Im Erfolgsfall wird ein Teil der transferierten Blastozysten nach Nidation und komplikationslos laufender Tragzeit auf normalem Wege geboren und vom Muttertier gesäugt.

Vasektomie:

8-12 Wochen alte Männchen werden nach 2 wöchiger Adaptation gewogen und durch Isofluran Inhalationsnarkose mit präoperativer Carprofengabe (5mg/kg KG) anästhesiert. In Rückenlage wird oberhalb des Präputiums rasiert und die Haut desinfiziert. Auf die Augen wird ein Tränenersatz aufgetragen. Die Tiere werden bis zum Aufwachen bei 38°C gewärmt.

Zur Vasektomie wird ca. 1 cm oberhalb des Präputiums ein 0,5-1,0 cm Hautschnitt gesetzt. Anschließend wird der darunterliegende Muskel stumpf eröffnet. Beide Vas deferens werden nacheinander aufgesucht, durch Thermokaustik wird jeweils ein 0,5cm langes Stück exstirpiert. Anschließend wird der Muskel mittels resorbierbarem Nahtmaterial (1 metric), die Haut mittels Hautklammer verschlossen. Es erfolgen bis zur Entfernung der Hautklammer am Tag 7 tägliche Kontrollen. Frühestens zwei Wochen nach OP werden die Männchen zum ersten mal mit Weibchen verpaart.

Genotypisierung:
Ohrstanzung oder in Ausnahmefällen eine <0,5 cm lange Schwanzspitzenresektion, wenn das Gewebe, welches bei der Ohrlochstanzung gewonnen wird, nicht ausreichend ist oder eine Genotypisierung bei sehr jungen Tieren erfolgen soll. Dieser Eingriff dauert weniger als 1 Sekunde und die Wunde wird mit Gewebekleber verschlossen.

12.2 Wissenschaftliche Erklärung, wie mit dem beschriebenen Versuchsaufbau die wissenschaftliche Fragestellung (Hypothese) beantwortet werden kann.

Es sollen genetisch veränderte Mäuse erstellt werden, bei denen genetisches Material über das Verfahren der Morula/Blastozysten Injektion embryonaler Stammzellen eingebracht werden soll.

12.3 Detaillierte Darstellung sämtlicher Maßnahmen mit zeitlichem Verlauf, ggf. anhand einer Zeitachse

 siehe Nr. 12.1

12.4 Welche Eingriffe oder Behandlungen sollen unter Betäubung durchgeführt werden und welche Betäubungsverfahren sind dabei vorgesehen?

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Eingriff | Wirkstoff | Dosis | Volumen | Applikationsart |
| Transfer Zygoten | Isofluran | 2-5 Vol% | k.A. | inhalativ |

12.5 Sind schmerzhafte Eingriffe ohne Betäubung vorgesehen?

[ ]  Nein

[x]  Ja, aber die mit der Durchführung des Versuchs verbundenen Schmerzen sind geringer als die mit einer Betäubung verbundenen Schmerzen und Leiden.

[ ]  Ja, aber der Zweck des Versuchs schließt eine Betäubung aus, und der Versuch führt an dem jeweiligen Tier nicht zu erheblichen Schmerzen.

 Begründung, weshalb der Versuchszweck die Betäubung ausschließt:

13 Angaben zu Schmerzen, Leiden und Schäden

13.1 Beschreibung und Begründung von Maßnahmen zur Schmerzlinderung bzw. deren Unterlassung; insbesondere Angaben zu: Wirkstoff, Dosierung, Applikationsart, Dauer der Behandlung, maximale Zeitabstände zwischen den einzelnen Behandlungen

Es findet eine einmalige präoperative Behandlung mit folgenden Substanzen statt:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Empfängerweibchen | Metamizol | 200 mg/kg KG | 0,4ml/kg KG | subkutan |
| Vasektomie | Carprofen | 5mg/kg KG | 0,25ml/kg KG | subkutan |

13.2 Zusammenfassung der Maßnahmen zur Verminderung, Vermeidung und Linderung jeglicher Form des Leidens von Tieren von ihrer Geburt bis zu ihrem Tod

Die Generierung, Zucht und Haltung der Tiere erfolgt in der IBF unter standardisierten Bedingungen gemäß den aktuellen gesetzlichen Vorgaben und Bestimmungen und nach Vorgaben des Tierschutzausschusses.

13.3 Beschreibung der Versuchs- und Beobachtungsstrategien zur Minimierung der Schmerzen, Leiden und Schäden im Laufe des Versuchsvorhabens

 Die Tiere werden täglich durch das tierpflegerische Personal der IBF adspektorisch kontrolliert. Sollte es hier zu Auffälligkeiten kommen, werden die Tierärztinnen der IBF kontaktiert und weitere Maßnahmen in Abhängigkeit vom Befund durchgeführt.

13.4 Mit welchen Methoden werden die den Tieren zuzufügenden Schmerzen, Leiden und Schäden auf das unerlässliche Maß beschränkt?

 Die Eingriffe werden von erfahrenen Personen durchgeführt, die diese Techniken seit Jahren verwenden und perfekt beherrschen. Sollten sich Verbesserungen in der technischen Durchführung ergeben, werden diese umgesetzt. Die Tiere erhalten eine präoperative Schmerztherapie. Aufgrund der Kürze der Eingriffe und der Erfahrung der durchführenden Personen ist nur von einer geringen Traumatisierung von Gewebe und damit auch nur von einer mäßigen Schmerzbelastung auszugehen, so dass die einmalige Applikation ausreichend erscheint.

13.5 Werden bei einem betäubten Wirbeltier oder Kopffüßer Mittel eingesetzt, durch die das Äußern von Schmerzen verhindert oder beeinträchtigt wird?

[x]  Nein

[ ]  Ja

 Wenn Ja, ist dies wissenschaftlich mit den Angaben des § 31 Abs. 1 Nr. 2
Buchstabe c TierSchVersV zu begründen:

13.6 Mit welchen Methoden soll die Haltung, die Zucht und die Pflege verbessert werden?

 Die Zucht, die Haltung und die Pflege der Tiere erfolgt grundsätzlich nach den aktuellen gesetzlichen Vorgaben und in Abstimmung mit den Vorgaben des Tierschutzausschusses.

13.7 Wie wird sichergestellt, dass die Versuchstiere so gehalten, gezüchtet und gepflegt werden, dass sie damit nur in dem Umfang belastet werden, der für die Verwendung zu wissenschaftlichen Zwecken unerlässlich ist?

Die Zucht erfolgt bedarfsorientiert, d.h. die Tiere werden nur in dem Maße gezüchtet, wie es für die Generierung der Linie notwendig ist. Die Pflege und Zucht der Tiere erfolgt durch Personen mit entsprechender Ausbildung (z.B. Tierpfleger) oder mit Sachkunde nach §16 TierSchVersV.

13.8 Wie sollen die Methoden, die in Tierversuchen angewendet werden, verbessert werden?

 Vor Einreichung des Antrags zur Genehmigung eines Tierversuchs erfolgte eine detaillierte Versuchsplanung unter Berücksichtigung der eigenen Erfahrungen, der aktuellen Literatur, dem Austausch innerhalb der eigenen und mit der Fragestellung ebenfalls befasster Arbeitsgruppen und ggf. dem Tierschutzausschuss. Ggf. erfolgt eine Anpassung der Methoden, wenn dies die anvisierten Versuchsergebnisse nicht beeinflusst.

13.9 Darlegung, dass Schmerzen, Leiden oder Schäden den Tieren nur in dem Maße zugefügt werden, als es für den verfolgten Zweck unerlässlich ist; insbesondere dürfen sie nicht aus Gründen der Arbeits-, Zeit- oder Kostenersparnis zugefügt werden; dabei sind die Methoden anzugeben, mit denen dies geprüft wurde

 Schmerzen, Leiden und Schäden werden den Tieren nur insofern zugefügt, wie es für die Generierung unerlässlich ist. Sollten sich technische Neuerungen ergeben, die diese weiter reduzieren können, werden diese eingesetzt. Eingesetzte Geräte, Instrumente etc. entsprechen dem neuesten technischen Stand, die Eingriffe werden nur von sehr erfahrenen Personen durchgeführt.

13.10 Darlegung, dass Tiere, deren artspezifische Fähigkeit, unter den Versuchseinwirkungen zu leiden weniger stark entwickelt ist, für den verfolgten Zweck nicht ausreichen; dabei sind die Methoden anzugeben, mit denen dies geprüft wurde

 Die Mäuse, deren Generierung hier beantragt wird, sollen später in Versuchen eingesetzt werden, bei welchen explizit nur Mäuse und keine phylogenetisch niedrigerstehenden Tiere verwendet werden können.

13.11 Beschreibung der vorgesehenen Eingewöhnungs- und Trainingsprogramme, die für die Tiere, die Verfahren und die Dauer des Versuchsvorhabens geeignet sind

 Es findet eine 2wöchige Akklimatisierungsphase nach Eintreffen der Tiere in der Haltung statt, danach sind keine weiteren Eingewöhnungs- oder Trainingsprogramme vorgesehen.

13.12 Werden an einem Tier Eingriffe oder Behandlungen durchgeführt, die voraussichtlich zu länger anhaltenden oder sich wiederholenden erheblichen Schmerzen oder Leiden führen, die nicht gelindert werden können?

[x]  Nein

[ ]  Ja

 Wenn Ja, ist dies zu begründen:

13.13 Beschreibung und Bewertung der Einzelbelastung (Intensität und Dauer von Schmerzen, Leiden oder Schäden), Einstufung des Schweregrads gemäß Anh. VIII der RL 2010/63/EU, bezogen auf die jeweilige Tierart. In diesem Zusammenhang auch Darstellung genotypbedingter Belastungen genetisch veränderter Tiere

|  |  |
| --- | --- |
| Maßnahme | Einschätzung Belastung |
| Genotypisierung | gering |
| Einzelhaltung | gering |
| Tötung | gering, ultimativer Schaden für das Tier |
| operativer Eingriff mit Schmerztherapie | mittel |
| Belastung durch genetische Veränderung | ? Vermutete Belastung angeben. Falls Maßnahmen zur Verringerung der Belastung durchgeführt werden, auch diese angeben. Dadurch verringert sich möglicherweise die Gesamtbelastung der gezüchteten Tiere. |

13.14 Bewertung der Gesamtbelastung, Einstufung des Schweregrades gem. Anhang VIII der RL 2010/63/EU bezogen auf die jeweilige Tierart (für die Beurteilung der Gesamtbelastung ist das am stärksten belastete Tier ausschlaggebend)

[ ]  keine Wiederherstellung der Lebensfunktion

[ ]  gering

[x]  mittel

[ ]  schwer

13.15 Benennung konkreter, versuchsspezifischer Abbruchkriterien, ggf. ein Score Sheet als Anlage beilegen

In der Regel sind nach dem Zygotentransfer in die scheinträchtigen Empfängerweibchen oder nach der Vasektomie der Böcke keine weiteren postoperativen Maßnahmen erforderlich. Sollte es dennoch zu Entzündungen im Operationsgebiet oder/und im Bereich der Nahtstelle kommen, die sich in einem abnormen Verhalten der betroffenen Tiere äußert, wie z.B. häufiges Kratzen im Bereich der Operationswunde, struppiges Fell, Apathie, etc., werden die betroffenen Tiere den zuständigen Tierärztinnen vorgestellt und das weitere Vorgehen im Abhängigkeit vom Befund vorgenommen.

Falls eine Belastung durch die genetische Veränderung erwartet wird: für den Belastungsgrad spezifische Abbruchkriterien angeben, so dass die Tier nur möglichst gering belastet werden

13.16 In welchen maximalen Zeitabständen werden die Tiere durch einen Versuchsmitarbeiter kontrolliert?

 Die Kontrollen erfolgen täglich durch das tierpflegerische Personal der IBF.

13.17 Werden die Tiere regelmäßig gewogen, und wenn ja, in welchen maximalen Zeitabständen?

 Das Wiegen der Tiere erfolgt bei Auftreten von Störungen des Allgemeinbefindens, dann aber täglich.

14 Ethische Vertretbarkeit des Versuchsvorhabens

14.1 Wissenschaftlich begründete Darlegung (Abwägung), dass die zu erwartenden Schmerzen, Leiden oder Schäden der Versuchstiere im Hinblick auf den Versuchszweck ethisch vertretbar sind

14.2 Bei länger anhaltenden oder sich wiederholenden erheblichen Schmerzen oder Leiden wissenschaftlich begründete Darlegung, dass das angestrebte Versuchsergebnis vermutlich für wesentliche Bedürfnisse von Mensch oder Tier einschließlich der Lösung wissenschaftlicher Probleme von hervorragender Bedeutung ist

15 Verfahren am Versuchsende

15.1 Beabsichtigter Verbleib der Tiere, deren weitere Verwendung im Versuchsvorhaben nicht mehr vorgesehen ist (Tiere, die nicht versuchsbedingt getötet werden müssen)

[x]  Tötung

|  |  |
| --- | --- |
| Tötungsverfahren: | Tötung erfolgt durch CO2-Inhalation oder zervikale Dislokation.Vasektomierte Böcke: bei Nachlassen der LibidoSpenderweibchen: Tötung vor Entnahme BlastocystenEmpfängerweibche: Tötung nach Absetzen der NachkommenDa diese Tiere nicht genetisch verändert sind, können sie nach Tötung als Futtertiere weiterverwendet werden. |

[ ]  Weiterleben der Tiere ohne Beeinträchtigung des Wohlbefindens

[ ]  Weiterleben der Tiere mit vertretbarer Beeinträchtigung des Wohlbefindens

[ ]  Freilassung (im Falle von aus der Natur entnommenen Tieren)

[ ]  Anderweitige Unterbringung

 Erläuterungen:
Die nicht genetisch veränderten Tiere können nach Tötung als Futtertiere weitervewendet werden.

15.2 Soll ein Tötungsverfahren angewendet werden, welches nicht der Anlage 2 der TierSchVersV entspricht (z.B. Tötung von Fischen im Eiswasserbad)?

[x]  Nein

[ ]  Ja, aber es handelt sich um Tiere, die zum Zeitpunkt der Tötung empfindungs- und wahrnehmungslos sind, die vor dem Tod ihre Wahrnehmungs- und Empfindungsfähigkeit nicht wiedererlangen und bis zur sicheren Feststellung des Todes des Tieres eine Kontrolle der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit erfolgt.

[ ]  Ja, es handelt sich um Tiere, die empfindungs- und wahrnehmungsfähig sind. Ein Antrag auf Zulassung einer Ausnahme nach § 2 Abs. 3 TierSchVersV (Abweichendes Tötungsverfahren das nicht der Anlage 2 TierSchVersV aufgeführt ist) wird hiermit gestellt.

 Es ist zu begründen, dass dieses Tötungsverfahren wissenschaftlichen Erkenntnissen zufolge nicht stärkere Schmerzen und Leiden verursacht als ein den Anforderungen entsprechendes Verfahren oder dass die Anwendung dieses Verfahrens im Hinblick auf den Zweck des Tierversuchs unerlässlich und ethisch vertretbar ist:

16 Darlegung wie die Belange der Umwelt berücksichtigt werden sollen

Die Tiere werden unter Einhaltung der gesetzlichen Bestimmungen für Versuchszwecke gehalten (u.a. Verordnung zu der Annahmeerklärung vom 15. Juni 2006 über die Änderung von Anhang A des Europäischen Übereinkommens zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Wirbeltiere „ETS 123“).

Bei gentechnisch veränderten Tieren werden die Vorgaben des aktuellen Gentechnikgesetzes und die entsprechenden innerbetrieblichen Betriebsanweisungen der Universität Heidelberg eingehalten.

Die Entsorgung der getöteten Tiere erfolgt über die IBF nach den jeweils geltenden rechtlichen Anforderungen (Abfall Kategorie 1 gem. VO (EG) 1774/2002 und VO (EG) 999/2001 idF 1974/2005).

Die Ernährung der Tiere erfolgt soweit möglich vegetarisch oder vegan. Die Einstreu wird aus nachwachsenden Rohstoffen hergestellt (Pappeleinstreu). Bei der Haltung von Nagern werden Käfige und Zubehör nachhaltig genutzt, da die Verwendung nach Reinigung und Desinfektion über mehrere Jahre erfolgen kann.

17 Bei Durchführung mehrerer gleichartiger Versuchsvorhaben nach § 8a Abs. 1 Satz 1 TierSchG (deren Genehmigung im vereinfachten Genehmigungsverfahren erfolgt) die voraussichtliche Zahl der Versuchsvorhaben

18 Literaturverzeichnis

(Die Anzahl der Literaturzitate ist auf 10 Zitate zu beschränken.)

19 Abkürzungsverzeichnis

20 Zusammenfassung / Abstract (ca. ½ Seite DIN A4)

**Datenblatt für genetisch veränderte Tiere (GVT)**

**des Regierungspräsidiums Karlsruhe**

Reg.-Nr. intern

**1.Tierart**

**2. Name der experimentell verwendeten Linie**:

2.1 Offizielle Nomenklatur

2.2 Interne Laborbezeichnung

2.3 Zuchtführung in [ ]  Inzucht [ ]  Auszucht
Rückkreuzung auf

**3. Angaben zu Spenderstamm/Stämme oder Ursprungsstamm/Stämme**

3.1 DNA-Mikroinjektion in befruchtete Eizellen aus Stamm

3.2 Retrovirale Vektoren in Embryonen aus Stamm

3.3 ES-Zellen aus Stamm

 Sublinie

 in Blastocysten aus Stamm

3.4 Generierungsdatum

3.5 Spontanmutation

3.6 Mutagenese

3.7 Sonstige

**4. Genkonstrukte**

4.1 Informationen zum Genkonstrukt mit ausführlicher Erläuterung der systemischen Funktion (ggf. induzierbar, unterdrückbar, ausschaltbar, überexprimiert)

4.2 Tiermodell für

**5. Besonderheiten des Phänotyps der verwendeten Tiere einschließlich**

**Tierschutzrelevanz und Belastung**

5.1 Homozygot letal

5.2 Fellfarbe

5.3 Besondere Körpermerkmale

5.4 Besondere Verhaltensmerkmale

5.5 Besondere Reproduktionsmerkmale

5.6 Sonstiges, z.B. Immuninkompetenz

**6. Besonderheiten zu Zucht, Haltung und Transport**

6.1 Die GVT sind in **Sicherheitsstufe S** **\_\_** (GenTG) zu halten und zu transportieren!

6.2 Folgende besondere Haltungsbedingungen sind erforderlich:

**7. Aktueller Hygienestatus der Tiere**

Status: [ ]  konventionell [ ]  SPF [ ]  keimassoziiert [ ]  keimfrei

Datum des Gesundheitszeugnisses

Gesundheitszeugnis beiliegend [ ]  ja [ ]  nein

**8. Sonstige Informationen, einschl. Publikationen**

**9. Besitzer/Eigentümer der o.g. Linie:**

9.1 Name

9.2 Anschrift der Einrichtung/ des Institutes

9.3 Unterschrift

**Formblatt „Angaben zur biometrischen Planung“**

**des Regierungspräsidiums Karlsruhe**

für jeden Versuchsteil separat ausfüllen

**1. Titel des Versuchsvorhabens**

**2. Vorgesehene Anzahl und Begründung für die Anzahl der Tiere**

**einschließlich Angaben zur biometrischen Planung**

2.1 Teilversuchs-Nr.

2.2 Tierart

2.3 Gesamttierzahl

2.4 Anzahl Gruppen

2.5 Bezeichnung des Teilversuches

**3 Zu welchem der folgenden Versuchstypen würden Sie Ihr**

**Versuchsvorhaben einordnen**

[ ]  Technisch erforderlicher Vorversuch, bei dem die Tiere der Gewinnung des Materials dienen und selbst nicht im Versuch verwendet werden (z.B. Spendertiere)

[ ]  Hypothesen generierender Versuch mit geringen Tierzahlen (maximal 6 Tiere je Gruppe), bei dem noch keine spezifizierten Hypothesen geprüft werden können (Pilot-Versuch, Grundlagenklärung)

[ ]  Hypothesen überprüfender Versuch (pro Teilversuch ein Formblatt „Angaben zur biometrischen Planung“ beilegen, alternativ biometrisches Gutachten)

[ ]  Sonstige nicht-hypothesengenerierende Versuche (z.B. Versuchsvorhaben zu Aus-, Fort- und Weiterbildungszwecken)

**4 Bitte geben Sie die primäre Zielgröße an.**

(das zu untersuchende Haupt-Zielmerkmal des Versuches, anhand dessen die

Stichprobe berechnet wurde).

**5 Bitte geben Sie das primäre statistische Auswertungsverfahren an.**

(z.B.: t-Test, Wilcoxon-Test, Varianzanalyse)

**6 Bitte geben Sie Informationen zu den Planungsgrößen an.**

(z.B.: Fehler 1. Art, Fehler 2. Art, Varianz, zu erkennender relevanter

Unterschied)

**7 Mit welchem Verfahren wurde die Tierzahl bestimmt?**

 (z.B. mathematisch-statistischer Algorithmus/Formel, statistisches Tabellenwerk,

 spezielles Berechnungsprogramm (bitte Literaturangaben))

1. Die Superovulation der Spenderweibchen erhöht die Anzahl der ovulierten und damit potentiell zu befruchtenden Eizellen u.U. um ein mehrfaches der physiologischen Zahl. Dies bedeutet direkt die Einsparung von Spenderweibchen. Der zeitliche Ablauf der Injektionen wie auch der Superovulation selbst ist auch abhängig vom Lichtrhythmus des betreffenden Tierraumes. In der Regel erfolgt jedoch eine i.p.-Injektion von 5IU PMSG (Pregnant Mares Serum Gonadotropin, entspricht in der Wirkung dem FSH) in den frühen Nachmittagsstunden. Etwa 48h später werden 5 IU hCG (human Chorionic Gonadotropin, entspricht in der Wirkung dem LH) i.p. injiziert. Am späten Nachmittag nach dieser zweiten Injektion werden die superovulierten Weibchen zu den Böcken gesetzt.

2 Werden durch Verpaaren mit einem vasektomierten Bock erhalten; Scheinträchtigkeit ist die hormonelle Voraussetzung für die Annahme der Embryonen durch den weiblichen Organismus. [↑](#footnote-ref-1)