

Titel des Versuchsvorhabens	CRISPR/Cas9-gestützte Generierung von Funktionsverlustmutanten im Zebraärbübling zur Untersuchung der juvenilen Form von neuronaler Ceroid-Lipofuszinose		
Schlüsselwörter (Maximum 5)	Juvenile neuronale Ceroid-Lipofuszinose, JNCL, Hefe, Zebraärbübling		
Zwecke des Versuchsvorhabens (Mehrfachnennung möglich)	Grundlagenforschung	ja	
	Translationale und angewandte Forschung		nein
	Verwendung zu regulatorischen Zwecken und Routineproduktion		nein
	Schutz der natürlichen Umwelt im Interesse der Gesundheit oder des Wohlbefindens von Menschen und Tieren		nein
	Erhaltung der Art		nein
	Hochschulausbildung bzw. Schulung zum Erwerb, zur Erhaltung oder zur Verbesserung beruflicher Fähigkeiten		nein
	Forensische Untersuchungen		nein
	Erhaltung von Kolonien etablierter genetisch veränderter Tiere, die nicht in anderen Verfahren verwendet werden	ja	
Ziele des Versuchsvorhabens – wissenschaftliche Fragestellung	JNCL ist eine schwerwiegende neurodegenerative Erkrankung die in Kindesalter auftritt. Wir wollen die Mechanismen untersuchen, die JNCL zugrunde liegen, indem wir Krankheitsmodelle für JNCL in Backhefe und im Zebraärbübling generieren. Wirkstoffe aus einer Arzneimittelsammlung werden zunächst in Backhefe getestet. Stoffe, die in Hefe wirksam sind, werden anschließend in Krankheitsmodellen im Zebraärbübling validiert. Ziel dieses Versuchsvorhabens ist es anhand des CRISPR/Cas9 Systems Funktionsverlustmutanten für Gene die für JNCL relevant sind, im Zebraärbübling zu generieren, um sie als Krankheitsmodell zu verwenden.		
Welcher wissenschaftlicher Fortschritt wird durch das Projekt gefördert? Was kommt Menschen oder Tieren durch das Projekt zugute?	Dieses Projekt wird dazu beitragen JNCL besser zu verstehen. Darüber hinaus wollen wir durch die Verwendung eines kombinierten Screening-Ansatzes (Backhefe und Zebraärbübling) therapeutische Ansätze zur Behandlung dieser furchtbaren Krankheit finden.		
Art der zur Verwendung vorgesehenen Tiere. Anzahl der zur Verwendung vorgesehenen Tiere.	<i>Danio rerio</i> (Zebraärbübling) Für jede Mutantenlinie werden über 3 Generationen insgesamt 1.400 Fischlarven verwendet. Davon werden 700 Fische in die Aufzucht gehen. Ca. 385 adulte Fische werden die Mutation tragen, davon werden ca. 75 homozygot sein.		
Bitte beschreiben Sie, welche Belastungen und Schäden der Tiere erwartet werden und was mit den Tieren am Ende des Versuchs geschehen wird. Bitte benennen Sie, welcher Schweregrad erwartet wird.	Für heterozygote Individuen erwarten wir keinerlei Belastung. Für homozygote Individuen vermuten wir eine geringe Belastung. Die Linie wird heterozygot erhalten.		
<b>Anwendung der 3R</b>			
<b>Replacement/Vermeidung</b> Warum kann der verfolgte Zweck nicht durch andere Verfahren erreicht werden? Warum kann der Tierversuch nicht vermieden werden?	Die Wirkstoffe werden zunächst in einem Einzeller (Backhefe) getestet, Epilepsie kann jedoch nicht in diesem einfachen Organismus modelliert werden. Die Wirksamkeit wird deshalb im Zebraärbübling validiert, u. a. auch um die Toxizität des Stoffes auszuschließen.		
<b>2. Reduction/Verminderung</b> Wie wird die Zahl der verwendeten Tiere auf das unerlässliche Maß begrenzt?	Für jede kreierte Linie, werden 200 Eier injiziert, die durch das natürliche Laichen eines einzigen Fischpaares gewonnen werden können. Pro Gründerfisch werden jeweils in der F <sub>1</sub> und F <sub>2</sub> Generation 60 Gründerfische in die Aufzucht gegeben. Die Anzahl der Fische ermöglicht eine gewisse genetische Variabilität und vermeidet somit Inzuchtsdepression.		
<b>3. Refinement/Verbesserung</b> Warum wird die angegebene Tierart verwendet? Warum ist keine Tierart verwendbar, deren Fähigkeit Leiden zu empfinden weniger stark entwickelt ist? Welche Maßnahmen werden ergriffen um die Schäden auf das unerlässliche Maß zu beschränken?	Durch das Verwenden von Wirbeltieren mit einem geringeren Empfindungsvermögen anstatt von Säugern, wird die Belastung reduziert. Sollten die Fische stark leiden, werden sie umgehend euthanasiert.		