

Titel des Versuchsvorhabens	CRISPR/Cas9-gestützte Generierung einer Funktionsverlustmutante im Zebrafisch zur Untersuchung von peroxisomalen Erkrankungen		
Kurztitel	CRISPR- <i>pex</i>		
Schlüsselwörter (Maximum 5)	Peroxisomale Störung, <i>PEX1</i> , neurodegenerative Erkrankungen, Zebrafisch, Peroxisome, Zellwegersyndrom		
Zwecke des Versuchsvorhabens ( <i>Mehrfachnennung möglich</i> )	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	Peroxisome gelten als die Entgiftungsapparate der Zelle. Eine Fehlfunktion dieser Zellorganellen hat schwerwiegende Folgen und kann zu neuronalen Störungen, epileptischen Anfällen, Störungen der Leberfunktion, Muskelatonie sowie Störungen des Sehvermögens führen. Bis dato gibt es keine Behandlung für diese neurodegenerative Erkrankung und die meisten Patienten sterben binnen ihres ersten Lebensjahres. Wir wollen die Mechanismen untersuchen, die peroxisomalen Erkrankungen zugrunde liegen, indem wir ein Krankheitsmodell im Zebrafisch entwickeln.		
Welcher wissenschaftlicher Fortschritt wird durch das Projekt gefördert? Was kommt Menschen oder Tieren durch das Projekt zugute?	Dieses Projekt wird dazu beitragen peroxisomale Erkrankungen besser zu verstehen. Durch die Entwicklung des Krankheitsmodells erhoffen wir uns therapeutische Ansätze zu finden, um diese furchtbare Krankheit zu behandeln.		
Art der zur Verwendung vorgesehenen Tiere. Anzahl der zur Verwendung vorgesehenen Tiere.	<i>Danio rerio</i> (Zebrafisch). Für die Generierung dieser Mutantenlinie werden über drei Generationen insgesamt 1.400 Fischlarven verwendet. Davon werden ca. 700 Fische bis zur Geschlechtsreife gezüchtet. Insgesamt werden 385 Fische die Mutation tragen, davon werden in etwa 75 Tiere 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.	Die Linie wird heterozygot erhalten und für die Aufzucht verwendet. Für heterozygote Individuen erwarten wir keinerlei Belastung. Um die Belastung der genveränderten Linie zu beurteilen, werden auch homozygote Individuen herangezüchtet. Für homozygote Individuen erwarten wir eine schwere Belastung. Sollte die Mutation tatsächlich zu Belastungen führen, werden die Tiere täglich untersucht. Tiere, die erheblich leiden, werden umgehend euthanasiert.		
<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?	Peroxisome sind Zellorganellen, die in allen Zelltypen vorkommen. Folglich wirken sich peroxisomale Störungen auf verschiedene Ebenen aus. Aus diesem Grunde ist es notwendig diese Krankheit in einem lebenden Organismus zu untersuchen.		
<b>2. Reduction/Verminderung</b> Wie wird die Zahl der verwendeten Tiere auf das unerlässliche Maß begrenzt?	Die Anzahl der Fische entspricht den Bedürfnissen, die die Durchführung des Projektes ermöglichen, und basiert auf Erfahrungswerten.		
<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?	Zebrafisch und Mensch weisen erhebliche genetische Ähnlichkeiten auf. In der Neurobiologie hat sich der Zebrafisch als In-Vivo-Modell etabliert, da die Embryogenese und die Entwicklung der einzelnen Organe auf einer nicht-invasiven Weise untersucht werden kann. Fischlarven sowie adulte Tiere werden täglich beobachtet. Sollten sie starkes Leiden zeigen, werden sie umgehend euthanasiert.		