GV-SOLAS
Gesellschaft für Versuchstierkunde

Fachinformation

aus dem Ausschuss für Genetik

Reduktion der Zahl nicht verwendbarer Tiere in Versuchstierzuchten

Stand März 2022

verfasst von: Thorsten Buch,
Jutta Davidson, Katja Hose, Boris Jerchow,
Stefan Nagel-Riedasch, Johannes Schenkel

Inhaltsverzeichnis

Beschreibung der Situation 3
Hintergrund 3
Replacement, Reduction und Refinement 3
Minimierung der Zahl gezüchteter Labormäuse 3
Ursachen für das Entstehen nicht verwendbarer Tiere 3
Zuchtoptimierung 4
Zuchtvermeidung durch Kryokonservierung 4
Gewebespezifische und induzierte Genveränderungen 5
Weitergabe an Dritte 5
Nutzung in der Aus-, Fort- und Weiterbildung 5
Nutzung als Futtertiere 6
Fazit 6
Literatur 7

Beschreibung der Situation

Hintergrund

Biomedizinische Forschung ist heutzutage ohne den Einsatz genetisch veränderter Tiere, vor allem von Mäusen, nicht denkbar. Mäuse eignen sich zum einen wegen ihrer geringen Größe und kurzen Reproduktionszeiten gut als Versuchstiere, zum anderen sind Techniken zur gezielten Veränderung des Genoms bei der Maus schon seit mehreren Jahrzehnten etabliert. Inzwischen werden diese Techniken auch bei vielen anderen Tierarten angewendet und sind mittlerweile auf einem weit fortgeschrittenen Stand. Heute gibt es tausende Tiermodelle, die genau definierte Genveränderungen tragen und gezielt in Labortierhaltungen gezüchtet werden. **Diese kurze Übersicht soll sich mit den Tieren befassen, die auf Grund der Genetik und den darauf aufbauenden Zuchtverfahren unweigerlich geboren werden, jedoch nicht für den eigentlichen, wissenschaftlichen Zweck verwendet werden können. Weiterhin soll die Publikation Strategien und Lösungsansätze aufzeigen, wie die Zahl und Entstehung dieser Tiere so weit wie möglich minimiert werden kann. Schließlich sollen Möglichkeiten diskutiert werden, wie nicht verwendbare Tiere anderweitig genutzt werden können.** Da genetisch veränderte Tiere meist mit gentechnischen Verfahren hergestellt werden, fallen die so hergestellten Tiere dann auch unter die europäischen Verordnungen zu gentechnisch veränderten Tieren sowie das nationale Gentechnikrecht und die dazugehörigen Verordnungen.

Replacement, Reduction und Refinement

Es ist das erklärte Ziel der GV-SOLAS, den tierschutzgerechten Umgang von Versuchstieren zu fördern. Im Mittelpunkt der Überlegungen stehen dabei die sogenannten 3R: *Replacement* (Vermeidung), *Reduction* (Verringerung) und *Refinement* (Verbesserung). Genetische Veränderungen in Labormäusen dienen häufig der Modellierung von Krankheiten des Menschen, aber auch von Nutz- und Heimtieren. Es liegt daher auf der Hand, dass diese Genveränderungen auch mit einer Belastung für die Tiere einhergehen können. **Den oben genannten 3R entsprechend muss das Ziel der Forschenden sein, sowohl eine mögliche, durch die genetische Veränderung verursachte Belastung zu vermindern (*Refinement*), als auch die Anzahl der im Tierversuch eingesetzter Tiere so niedrig wie möglich zu halten (*Reduction*).**

Minimierung der Zahl gezüchteter Labormäuse

Ursachen für das Entstehen nicht verwendbarer Tiere

Aus biologischen Gründen ist es bei der Zucht genetisch veränderter Mäuse in vielen Fällen nicht möglich, ausschließlich Tiere mit solchen Merkmalen zu züchten, die dann in geplanten Experimenten verwendet werden können (siehe Abb.1). Es fallen unweigerlich auch Tiere an, die nicht die erforderlichen Merkmale tragen, und diese können dann nur zum Teil in Tierversuchen (z.B. als Kontrolltiere) oder für die Weiterzucht genutzt werden.

Um die Zahl der nicht verwendbaren Tiere in Versuchstierzuchten möglichst gering zu halten, gilt es, eine bedarfsgerechte Zuchtstrategie zu etablieren und auch die Tiere aus den Zuchten, die in vielen Fällen durch die genetische Veränderung völlig unbelastet sind, sinnvoll zu nutzen. Dafür gibt es mehrere, im Folgenden diskutierte, Ansatzpunkte:

Zuchtoptimierung

Die Prinzipien der Vererbung von genetischen Merkmalen, wie sie von Gregor Mendel entdeckt wurden, bestimmen die Durchführung der Zuchten in Versuchstierhaltungen. Schon aus diesen Vererbungsregeln ergibt sich, dass ein nicht unerheblicher Anteil von Tieren in einem Zuchtprogramm nicht den erforderlichen Genotyp aufweisen wird (siehe Abb. 1). **Trotz dieser unveränderlichen biologischen Gesetzmäßigkeiten kann jede Einrichtung Strategien für die Vermeidung unnötiger Zuchten entwickeln, sowie die nötigen Zuchten durch optimierte Zuchtschemata effizient durchführen.** Mittels genauer Planung und Kalkulation kann eine Zuchtstrategie für die geringstmögliche Anzahl an Tieren entwickelt werden, ohne Gefahr zu laufen, die statistisch für ein Experiment notwendige Gruppengröße zu unterschreiten. Aufgrund der möglichen Variablen kann hier kein standardisiertes Verfahren vorgegeben werden, es gibt jedoch Anleitungen, die hier weiterhelfen (1, 2, 3) und es sind Softwares (4) verfügbar, die eine optimierte Zuchtplanung ermöglichen.

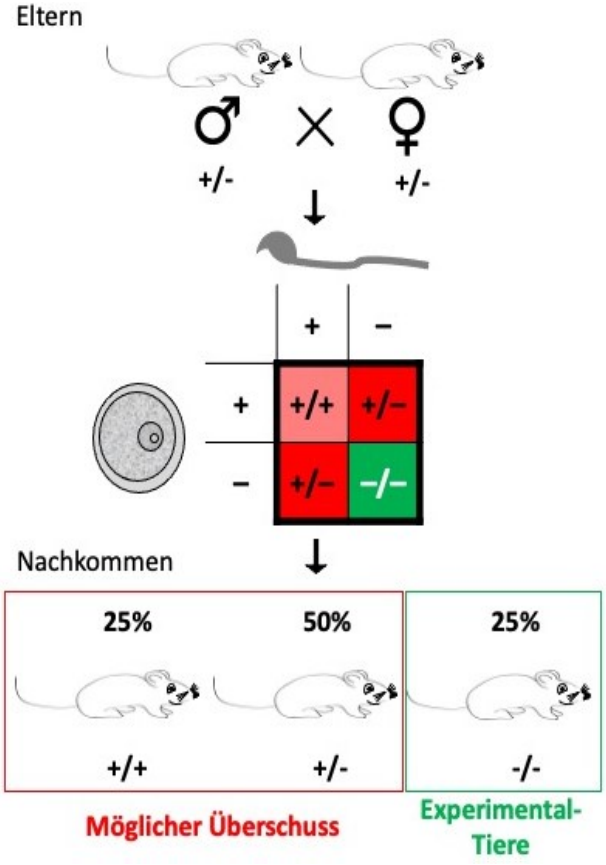

Abb. 1 Mendelsche Genetik

Alle Säugetiere besitzen jedes Chromosom zweimal. Allerdings können die Gene darauf unterschiedliche Varianten aufweisen. Hier wird dargestellt, wie die Nachkommen der Zucht von zwei Elterntieren aussehen, die beide zwei verschiedene Varianten desselben Gens (bezeichnet mit + und -) tragen. Die Samen- und Eizellen können also jeweils die + oder - Variante tragen. Wenn nun, wie im Punnett-Quadrat* in der Mitte zu sehen, die verschiedenen Ei- und Samenzellen kombiniert werden, werden hierdurch die Genotypen der nächsten Generation gebildet. Das Quadrat zeigt zudem, wie häufig jeder Genotyp auftritt. Wenn Forschende nun beispielsweise ausschließlich -/- Tiere für ihre Analysen benötigen, können sie nur 25% der Tiere direkt als Experimentaltiere verwenden, während 75% oft nicht im Versuch verwendet werden können. Dies ist das Ergebnis der natürlichen Zuchtgesetzmäßigkeiten und kann nicht durch die Forschenden beeinflusst werden.

* nach dem britischen Genetiker Reginald C. Punnett

Zuchtvermeidung durch Kryokonservierung

Genetisch veränderte Linien, die nicht unmittelbar für Experimente verwendet werden sollen, sollten in Form von Embryonen oder Sperma eingefroren (kryokonserviert) werden. Während die Kryokonservierung viele Vorteile, wie die Reduktion der Zahl gezüchteter Tiere und Kosten, die Verhinderung spontaner Mutationen/genetischer Drift, die Vermeidung von Tiertransporten

und die Sicherstellung der Tiergesundheit hat, wird diese bisweilen auch kritisiert, da zur Kryokonservierung selbst Tiere benötigt und bei der Revitalisierung einer konservierten Linie u.a. Leihmütter erforderlich sind, an denen belastende Eingriffe vollzogen werden müssen. Trotz dieser Kritik ist die Kryokonservierung eine ganz wesentliche Technik zur Sicherung von Mutanten, die eine erhebliche Zuchtreduktion mit sich bringt. Es muss in jedem Einzelfall entschieden werden, ob die Kryokonservierung einer Linie sinnvoll erscheint oder es notwendig ist, eine Linie weiter zu züchten.

Gewebespezifische und induzierte Genveränderungen

Es ist schon seit einiger Zeit auf unterschiedliche Weise möglich, **Genveränderungen zeit- und/oder gewebsspezifisch zu induzieren**. Bei der am häufigsten verwendeten Methode der Induktion werden zwei genetische Komponenten benötigt, die durch die Kreuzung von zwei spezifischen Linien zusammengebracht werden. Dies hat den Vorteil, dass die einzelnen Linien in der Zucht erhalten werden können, ohne dass es zu einer Belastung der Tiere aufgrund veränderter Merkmale kommt (*Refinement*). Nachteilig ist allerdings, dass bei der Zucht der doppelt mutierten Tiere aufgrund der Regeln der Vererbungslehre auch Tiere entstehen, die nicht für das geplante Experiment verwendet werden können. Dies läuft dem Gedanken nach einer Verringerung (*Reduction*) der Versuchstierzahlen entgegen. Folglich muss hier im Einzelfall über die bestmögliche Vorgehensweise entschieden werden. Eine Möglichkeit ist es bei diesen Methoden, Geschwistertiere in Kontrollgruppen zu verwenden.

Weitergabe an Dritte

In vielen Institutionen wurden **Plattformen geschaffen, über die ein Austausch von Tieren oder Organen zur weiteren wissenschaftlichen Nutzung ermöglicht wird**. Die Geschäftsbedingungen verschiedener Zuchtdienstleister wie auch Verträge (Material Transfer Agreements, MTA) mit anderen Institutionen schränken jedoch zum Schutz des geistigen oder kommerziellen Eigentums bisweilen die Weitergabe von Tieren an Dritte ein. Tierversuchseinrichtungen dürfen daher nur über eigene Linien uneingeschränkt verfügen oder benötigen die Erlaubnis des Lizenzgebers. **Organe von Tieren können grundsätzlich von einer Einrichtung nach außen abgegeben werden. Auch hierfür sind entsprechende Plattformen, wie präklinische Biobanken sinnvoll. Lebende Tiere können ebenfalls nach außen, z.B. in Privathand** abgegeben werden, wenn „Adoptionsprogramme“ gemäß den geltenden Rechtsvorschriften (z.B. Gentechnikrecht) etabliert sind. Im Gegensatz zu Hunden und Katzen ist es jedoch bei Nagern äußerst schwierig und in der Vielzahl unmöglich, diese zu vermitteln. Auch sind gentechnisch veränderte Tiere von der Vermittlung an Privat grundsätzlich ausgeschlossen.

Nutzung in der Aus-, Fort- und Weiterbildung

Unbelastete Tiere eignen sich sehr gut zur Nutzung für Ausbildungszwecke von Mitarbeitern und Experimentatoren in Einzelschulungen oder versuchstierkundlichen Kursen. Aus ethischer Sicht und nach dem Prinzip der Schadensminimierung sollten dabei nur wenige Manipulationen am selben Tier durchgeführt werden und damit der niedrigeren Belastung des Einzeltiers (*Refinement*) der Vorzug gegenüber der Minimierung der Gesamttierzahl bei individuell höherer Belastung (*Reduction*) gegeben werden. Genehmigungsbehörden stehen dieser Vorgehensweise in der Regel positiv gegenüber. Die Abwägung hat jedoch im Einzelfall zu erfolgen.

Nutzung als Futtertiere

Zoos, Falknereien, Reptilien- und Greifvögel-Auffangstationen u.a. haben einen großen Bedarf an Tieren zur Verfütterung an die von ihnen gehaltenen Tiere. Dieser wird zum Teil mit Nagern gedeckt, die speziell als Futtertiere gezüchtet werden. In Anlagen zur Versuchstierzucht herrscht ein sehr hoher Tierschutz- und Hygienestandard, der von den Züchtern von Futtertieren so in der Regel nicht erreicht wird. Um nicht verwendete Versuchstiere als Futtertiere abzugeben, sind die einschlägigen Rechtsbestimmungen einzuhalten (Registrierung nach Art. 23 VO EG 1069/2009).

Dies ist bei Wildtyptieren und auch bei solchen genetisch veränderten Tieren, die nicht durch gentechnische Maßnahmen generiert wurden (Spontanmutanten) mit nur mäßigem bürokratischem Aufwand möglich. Primäre Ansprechpartner sind dabei i. d. R. die örtlichen Veterinärämter.

Nicht unter diese Nutzung fallen jedoch getötete und inaktivierte gentechnisch veränderte Tiere, die als gentechnisch verändertes Futtermittel im Sinne der EU-Verordnung 1829/2003 gelten. **Um gentechnisch veränderte Tiere als Futtertiere verwenden zu können, wird eine individuelle Genehmigung jeder einzelnen Tierlinie als Futtermittel nach dieser Verordnung benötigt, was die Abgabe solcher Tiere nahezu unmöglich macht.** Bisher gibt es, nach unserer Kenntnis, auch keinen Präzedenzfall für eine Zulassung von gentechnisch veränderten Mäusen oder Ratten als Futtermittel.

Im Sinne des Tierschutzes ist es anzustreben, dass eine Verfütterung getöteter gentechnisch veränderter Tiere ermöglicht wird, da es dem Anliegen des Tierschutzes widerspricht, einerseits getötete Versuchstiere von höchster Qualität ungenutzt zu entsorgen, während andererseits Tiere unter minderen Standards eigens zur Verfütterung gezüchtet und getötet werden.

Fazit

Aufgrund der Säugetiergenetik werden in Versuchstierzuchten Tiere geboren, welche nicht die für die Forschung benötigten Merkmale aufweisen. **Die Zahl dieser nicht im Versuch verwendbaren Tiere kann minimiert werden, es ist jedoch unmöglich, völlig zu vermeiden, dass solche Tiere entstehen.** Solange längerfristig keine Experimente geplant sind, können genveränderte Linien **kryokonserviert** werden. Die Verwendung von **induzierbaren und gewebespezifischen Genveränderunge**n führt zur Vermeidung von Belastungen der Tiere, führt aber regelmäßig auch zu höheren Zahlen nicht verwendeter Tiere. Die **Abgabe von Tieren** an andere Forschergruppen oder an Privathand oder die Verwendung in der **versuchstierkundlichen Ausbildung** sind Möglichkeiten, Tiere, die in eigenen Forschungsvorhaben nicht verwendet werden können, sinnvoll zu nutzen. Die Abgabe von genetisch veränderten Tieren, die wegen ihres Genotyps nicht für wissenschaftliche Zwecke genutzt werden können, als Futtertiere ist praktisch auf bei der Zucht anfallende Wildtyptiere oder auf solche genetisch veränderten Tiere begrenzt, die nicht durch gentechnische Maßnahmen entstanden sind (Spontanmutanten). Die Abgabe von gentechnisch veränderten Tieren als Futtertiere ist zurzeit aus regulatorischen Gründen unmöglich. Hier besteht dringender gesetzgeberischer Handlungsbedarf auf EU-Ebene.

Literatur

1. Breeding Colony Size Planning Worksheet. https://www.jax.org/jax-mice-and-services/customer-support/technical-support/breeding-and-husbandry-support/colony-planning
2. Milchevskaya V, Bugnon P, ten Buren EBJ, Brand F, Tresch A, Buch T. 2021. Group size planning of breedings of gene-modified animals. bioRxiv 2021.09.17.460764; https://doi.org/10.1101/2021.09.17.460764
3. https://resources.jax.org/content-mini-courses/breeding-strategies-simple-to-complex
4. Bomzon A. 2006. Breeding Calculator: https://www.ltk.uzh.ch/en/Breeding.html

Haftungsausschluss

Die Benutzung der Veröffentlichungen (Fachinformationen, Stellungnahmen, Hefte, Empfehlungen, u. ä.) der GV-SOLAS und die Umsetzung der darin enthaltenen Informationen erfolgt ausdrücklich auf eigenes Risiko. Die GV-SOLAS und auch die Autoren können für etwaige Unfälle und Schäden jeder Art, die sich durch die Nutzung der Veröffentlichung ergeben (z.B. aufgrund fehlender Sicherheitshinweise), aus keinem Rechtsgrund eine Haftung übernehmen. Haftungsansprüche gegen die GV-SOLAS und die Autoren für Schäden materieller oder ideeller Art, die durch die Nutzung oder Nichtnutzung der Informationen bzw. durch die Nutzung fehlerhafter und/oder unvollständiger Informationen verursacht wurden, sind grundsätzlich ausgeschlossen. Rechts- und Schadenersatzansprüche sind daher ausgeschlossen. Das Werk inklusive aller Inhalte wurde unter größter Sorgfalt erarbeitet. Die GV-SOLAS und die Autoren übernehmen jedoch keine Gewähr und keine Haftung für die Aktualität, Korrektheit, Vollständigkeit und Qualität der bereitgestellten Informationen, ebenso nicht für Druckfehler. Es kann keine juristische Verantwortung sowie Haftung in irgendeiner Form für fehlerhafte Angaben und daraus entstandene Folgen von der GV-SOLAS und den Autoren übernommen werden. Für die Inhalte von den in diesen Veröffentlichungen abgedruckten Internetseiten sind ausschließlich die Betreiber der jeweiligen Internetseiten verantwortlich. Die GV-SOLAS und die Autoren haben keinen Einfluss auf Gestaltung und Inhalte fremder Internetseiten und distanzieren sich daher von allen fremden Inhalten. V.i.S.d.P. der Vorstand der GV-SOLAS.