

1 Algemene gegevens

- 1.1 Titel van het project | Onderzoek naar regulatie van de ontwikkeling: hoe ontstaat een organisme uit één cel?
- 1.2 Looptijd van het project | 22-2-2018 - 22-2-2023
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | Zebrafish, Polycomb, geslachtscellen, embryonale ontwikkeling, darmontwikkeling

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.

U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.

- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Projectbeschrijving

3.1	Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	<p>Alle gewervelde dieren zijn ontstaan uit een enkele cel (eencellig embryo). Deze enkele cel heeft de capaciteit om verschillende weefsels te vormen, zodat een goed functionerend organisme ontstaat. Dit is een bijzonder proces, aangezien alle cellen in het lichaam in principe dezelfde genetische code (DNA) bevatten. Dit betekent dat er een mechanisme moet zijn dat bepaalt hoe de genetische code in de verschillende celtypes van de weefsels gebruikt wordt. Dit wordt epigenetica genoemd. Het DNA samen met de epigenetische aanpassingen, wordt chromatine genoemd. De verschillende epigenetische aanpassingen op het DNA, zorgen ervoor dat genen wel of juist niet tot expressie komen. Hoe deze epigenetische regulatie exact plaatsvindt is niet bekend.</p> <p>Een eencellig embryo kan ontstaan na de fusie tussen een eicel en een zaadcel. Deze celtypes zien er compleet anders uit in vergelijking met elkaar en het eencellige embryo, toch beschikken ze over de informatie om een nieuw organisme te vormen. Het is onbekend hoe eicellen en zaadcellen (geslachtscellen) in staat zijn om uit te rijpen en in staat zijn om de capaciteit behouden om een eencellig embryo te genereren. Dit eencellige embryo kan alle cellen van het lichaam (somatische cellen) vormen en ook weer geslachtscellen.</p> <p>De doelstelling van dit project is om kennis te verkrijgen over de onderliggende moleculaire mechanismes die zorg dragen voor de specificatie en het behoud van weefsel-specifieke eigenschappen van somatische cellen en geslachtscellen.</p>
3.2	Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	<p>In dit project kijken we wat het effect is van het verstoren van epigenetische regulatie op het behoud van somatische cellen en geslachtscellen. Door de normale epigenetische regulatie te verstoren, verkrijgen we kennis van de onderliggende moleculaire en epigenetische mechanismen die het behoud van somatische en geslachtscellen reguleren. Deze kennis leidt tot beter begrip van complexe ontwikkelingsbiologische systemen die ten grondslag liggen aan het bestaan en instandhouden van een soort.</p>
3.3	Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	<p>In dit project zullen zebravissen als model systeem worden gebruikt. De aantallen worden geschat op maximaal 35.983 zebravissen.</p>

3.4	Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	Voor dit project zullen de dieren op verschillende tijdstippen tijdens de ontwikkeling gedood worden om moleculaire analyses op het verkregen weefsel uit te voeren. In de periode tot analyse zullen de zebravissen volgens standaard methodes verzorgd worden. Verder zullen functionele darm analyses voor het darmstelsel worden gedaan, deze worden binnen een dag uitgevoerd waarbij de zebravis larven meerdere keren verdoofd worden en hiervan bij zullen komen. Aan het einde van deze analyses zullen de larven gedood worden. Tijdens de functionele darm analyses zullen de dieren individueel gehuisvest worden, zodat per individu de functionaliteit van de darmen bestudeerd kan worden, wat ingaat tegen hun natuurlijke behoefte om in scholen te leven. Voor het beantwoorden van bepaalde onderzoeksvragen zullen volwassen dieren verdoofd worden om sperma en eicellen te verzamelen. Tijdens deze procedure bevinden de dieren zich buiten het water en zal er druk op de buik van de zebravis worden uitgeoefend om het sperma en de eicellen naar buiten te duwen. Hierna zullen de vissen moeten bijkomen uit de verdoving, dit gebeurt in zebravissen binnen 1 minuut. Deze aspecten kunnen een negatief effect hebben op het welzijn van de zebravis. De procedure zal zo snel en efficiënt mogelijk worden uitgevoerd om het mogelijke negatieve effect op het welzijn te minimaliseren.
3.5	Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	Voor alle zebravissen wordt het ongerief op licht ingeschat. Dit geldt zowel voor dieren die gedood worden om materiaal te verzamelen voor moleculaire analyses, als ook voor de zebravissen die gebruikt worden voor de darmfunctietesten of het verzamelen van eicellen of zaadcellen.
3.6	Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	De zebravissen zullen op humane wijze gedood worden om materiaal te verkrijgen voor de moleculaire analyses. Na afloop van het verzamelen van voldoende sperma en eicellen en aan het einde van de darmfunctie testen zullen de zebravissen gedood worden.

4 Drie V's

4.1	Vervanging Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.	Het proces van embryonale ontwikkeling, met daarbij gerekend de ontwikkeling van de geslachtscellen, is een complex geheel. Hierdoor kunnen we geen gebruik maken van proefdiervrije alternatieven. Het is namelijk niet mogelijk om de samenhang tussen alle factoren die een rol spelen bij ontwikkeling van een embryo en de verschillende organen te bestuderen in celweek. Uit eerder onderzoek weten we dat de zebravis een goed diermodel is voor het bestuderen van moleculaire en epigenetische processen die een rol spelen tijdens de embryonale ontwikkeling en de vorming van geslachtscellen bij alle gewervelden (inclusief mensen).
-----	---	---

4.2	Vermindering Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.	We hebben het aantal zebravissen dat we nodig hebben zo laag mogelijk gehouden door waar mogelijk beschikbare data in de literatuur van gerelateerde experimenten te gebruiken. Daarnaast hebben we op basis van onze ervaring met zebravis embryos een inschatting gemaakt hoeveel materiaal we nodig hebben van oudere larven en weefsel. Verder maken we gebruik van de nieuwste moleculair biologische technieken waar minder materiaal voor nodig is en blijven we de ontwikkelingen op dit gebied op de voet volgen om zo min mogelijk proefdieren te gebruiken. Er worden meerdere keren geslachtscellen verzameld bij dezelfde dieren totdat ze te oud zijn geworden, waardoor er in totaal minder dieren nodig zijn.
4.3	Verfijning Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diersoort(en) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.	De mechanismen die wij bestuderen zijn voor alle gewervelden (van vissen tot mensen) vergelijkbaar. De mutanten die wij voor deze studie zullen gebruiken, zijn niet levensvatbaar in de muis. De mutante zebravissen overleven voor een langere periode en laten vergelijkbare defecten in ontwikkeling zien. Daarnaast worden eicellen en zaadcellen in zebravissen het hele leven gevormd, wat het mogelijk maakt om beide celtypen te bestuderen. Verder ontwikkelen zebravis embryo's zich buiten het lichaam tot volwassen vissen, waardoor de ontwikkeling gemakkelijker te bestuderen is. De meeste dieren in dit project leveren materiaal dat ex vivo wordt onderzocht. De darmfunctietesten en het verzamelen van geslachtscellen vinden plaats bij verdoofde dieren, waardoor zij er zo min mogelijk last van hebben.
4.4	Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.	De zebravissen worden dagelijks bezocht om zorg te dragen voor hun welzijn. Bij deze controle zal aandachtig gekeken worden naar onder andere: zwemmen in afwijkende patronen, onderste boven liggen en abnormale uiterlijkheden, zoals een gebogen lichaam. De zebravissen worden gedood voordat er matig ongerief op kan treden.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum	13 maart 2018
Beoordeling achteraf	Nee
Andere opmerkingen	Nee