

		Inventaris Wob-verzoek W17-08								
			wordt verstrekt			weigeringsgronden				
nr.		document NTS 2017851	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1		Origineel aanvraagformulier				x		x	x	
2		NTS	x							
3		Projectvoorstel			x					
4		Bijlage			x					
5		Ontvangstbevestiging en factuur				x		x	x	
6		Verzoek om aanvullende informatie				x		x	x	
7		Antwoord op verzoek om aanvullende informatie			x					
8		DEC advies				x		x	x	
9		Advies CCD		x						x
10		Beschikking en vergunning				x		x	x	



08 FEB. 2017

Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl, of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 10800 ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Universiteit Utrecht
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	30275924
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht
		Postbus	12007
		Postcode en plaats	3501AA Utrecht
		IBAN	NL27INGB0000425267
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] ☒ Dhr. ☐ Mw.
		Functie	Onderzoeker
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] ☒ Dhr. ☐ Mw.
		Functie	Associate professor
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- | | | |
|-----------------------------|--|--|
| (Titel) Naam en voorletters | | ☐ Dhr. ☐ Mw. |
| Functie | | |
| Afdeling | | |
| Telefoonnummer | | |
| E-mailadres | | |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- ☐ Ja > Stuur dan het ingevulde formulier *Melding Machtiging* mee met deze aanvraag
- ☒ Nee

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- ☒ Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3
- ☐ Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2
- ☐ Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3
- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- ☐ Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier
- ☐ Nee > Ga verder met vraag 3
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- ☐ Nee > Ga verder met vraag 3
- ☐ Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|--------------|
| Startdatum | 1 - 3 - 2017 |
| Einddatum | 1 - 3 - 2023 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Immunisaties ten behoeve van het verkrijgen van hybridomas
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Verkrijgen van specifieke antilichamen via immuuncellen uit de muis
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|-------------------------------|
| Naam DEC | DEC Utrecht |
| Postadres | Postbus 85500 3508 GA Utrecht |
| E-mailadres | dec-utrecht@umcutrecht.nl |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? ☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1035 Lege
☐ Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.
☐ Via een eenmalige incasso
☐ Na ontvangst van de factuur

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht**
☒ Projectvoorstel
☒ Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
☐ Melding Machtiging
☐

6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
 - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
 - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
 - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
 - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam

Functie

Plaats

Datum

Handtekening

Utrecht

31-01-2017



Format

Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

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 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Dit onderzoek is in samenwerking met Bioceros BV in Utrecht gestart, zie hiervoor ook

<http://bioceros.com/>. Het immuunsysteem speelt een cruciale rol als verdedigingsmechanisme tegen ziekteverwekkers. Ten einde het immuunsysteem te bestuderen en te kunnen moduleren in patiënten is het van essentieel belang om monoclonale antistoffen te verkrijgen die gebruikt kunnen worden als diagnostische of therapeutische werktuig. Hierbij wordt gedacht aan monoclonale antistoffen gericht tegen diverse surface markers op de cellen van het immuunsysteem. Belangrijke cellen in deze zijn B- en T-cellen, maar ook diverse antigeen presenterende cellen (APC), bijvoorbeeld dendritische cellen. Voor veel van de antigenen zijn monoclonale antistoffen te verkrijgen, maar die zijn alleen bedoeld en geschikt voor detectie van expressie van dit antigeen. Het doel van dit onderzoek is monoclonalen te selecteren en ontwikkelen die specifiek-functioneel werkzaam zijn en vanwege die zeer specifieke activiteit potentieel gebruikt kunnen worden als nieuw therapeutisch middel voor gebruik in de mens. Dit voorstel beoogt antilichaamproducerende B cellen te genereren tegen klinisch relevante (surface) markers zoals CD36 (Rać ME, 2007. Mol. Med. 13: 288–96), CD134 (OX40, <http://www.gsk.com/en-gb/media/press-releases/2015/gsk-and-merck-to-study-immunotherapy-combination-as-potential-cancer-treatment/>). myostatine (Han HQ, 2013 Int J Biochem Cell Biol. 45:2333-47) en nog nader te bepalen targets, om deze vervolgens op te kweken tot hybridoma's. De door deze hybridoma's geproduceerde monoclonale antilichamen worden of zullen worden gebruikt in alle denkbare inflammatoire aandoeningen waar het immuunsysteem een rol speelt, zoals rheumatoïde arthritis, IBD, multiple sclerosis, Alzheimer's, infectieuze ziekten als Ebola en veel soorten kanker. In deze ziekten wordt met wisselend succes ook al klinische trials gedaan met diverse antilichamen. Een antilichaam tegen TNF-alpha wordt bijvoorbeeld al succesvol toegepast in darmaandoeningen als IBD.

De meest robuuste manier om monoclonale antilichamen te verkrijgen is de klassieke benadering van Kohler en Milstein: "the hybridoma technology". Hierbij worden muizen geïmmuniseerd met het antigeen van interesse en wordt optimaal gebruik gemaakt van de biologische variabiliteit die optreedt bij een antilichaam reactie in vivo. Op deze manier is het mogelijk om veel verschillende antilichamen (isotypen en idiotypen) te maken tegen hetzelfde antigeen, die volkomen verschillende functionele activiteit hebben. Op die manier kan het antilichaam met de gewenste functionaliteit geselecteerd worden. Bij immunisatie wordt de immuunreactie in de dieren gevolgd door bloedafname, waarna bij een goede immuunreactie (gemeten door de antilichaamspiegel), de muizenlymfocyten worden verwijderd en gefuseerd met myeloma cellen om ze te immortaliseren. Na het genereren van deze zgn hybridomas wordt uit deze verzameling van verschillende cel-lijnen de hybridoma geselecteerd die een antilichaam maakt dat functioneel actief is. De gebruikte testen hiervoor vallen echter buiten deze projectaanvraag en worden gedaan in het eigen laboratorium van Bioceros. In het kort, een in vitro assay die voorspellend gaat zijn voor het potentiële klinisch gebruik zal dit gaan bepalen. In sommige indicaties zullen antistoffen nodig zijn die signaal transductie van een receptor inhiberen (antagonist; bv voor CD36) terwijl in andere indicaties juist de signaal transductie van een receptor moet worden gestimuleerd (agonist; bv CD134). Bovendien mogen de antistoffen ook niet onverwachts binden aan andere weefsels waar geen target tot expressie komt (de zogenaamde kruisreactiviteit). Deze niet bedoelde kruisreactiviteit kan resulteren in ernstige bijwerkingen van antilichamen wanneer ze later als systemische behandeling gaan worden gebruikt in patiënten. Het is daarom van cruciaal belang om het juiste antilichaam te selecteren en te testen.

Als alternatief voor antilichaam ontwikkeling wordt tegenwoordig vaak de "antibody phage display" genoemd (Wu CH, 2016, J Biomed Sci. 23: 8). Ieder mens heeft een verzameling van antistoffen. Deze antistoffen zijn gericht tegen ziekteverwekkers (lichaamsvreemde antigenen, zoals bacteriën en virussen). Via moleculaire biologische technieken kan de genetische informatie (zgn 'antibody library') welke codeert voor fragmenten (ie, variabele delen, zoals scFv's en Fab's) van deze antistoffen op bacteriofagen (een virus welke een bacterie kan infecteren) worden tentoongesteld (zgn 'phage display'). Voor 'phage display' wordt dus DNA dat codeert voor variabele delen van een antistof geplakt aan het bacteriofaag DNA dat codeert voor een eiwit aan de buitenkant van de bacteriofaag. Op deze manier komt de antistof aan de buitenkant van de bacteriofaag terecht, en iedere bacteriofaag brengt zodoende 1 uniek antistof tot expressie. Dit wordt gedaan met de gehele 'antibody library'. Vervolgens wordt deze verzameling van bacteriofagen geïncubeerd (dmv 'biopanning') met het antigen van interesse. De niet-bindende bacteriofagen worden weggespoeld en de bindende bacteriofagen worden opnieuw vermenigvuldigd in hun gastheerbacterie. Uiteindelijk wordt de sequentie van het ingebrachte stuk DNA welke codeert voor de variabele delen van de specifiek bindende antistof bepaald, en vervolgens wordt deze genetische informatie gebruikt om humane IgG's te maken. Hierbij worden de geselecteerde variabele delen geplakt aan de constante delen (ie, bekende sequenties van zware en lichte ketens) van humane IgG's.

Ofschoon de nieuwe 'antibody phage display'-techniek voor antilichaam ontwikkeling een goed alternatief is/likt te zijn ter vervanging van de klassieke immunisatie/hybridoma-techniek, heeft de 'phage display'-techniek voor ons doel een aantal tekortkomingen en is geen alternatief in onze situatie:

- Allereerst is het kiezen van de juiste en meest complete phage display library (het aantal aminozuur residuen) met de juiste stabiliteit en kwaliteit niet eenvoudig en nog niet mogelijk zonder grote, zo niet enorme investeringen in tijd en reagentia. Dit is nu en in de nabije toekomst niet mogelijk in de laboratoria van Bioceros en het IRAS.
- Verder is het essentiële verschil tussen de twee technieken voor ons specifieke doel dat de immunisatie/hybridoma-techniek resulteert in antistoffen tegen humane antigenen die immunogeen/lichaamsvreemd zullen zijn voor de muis (ie, opwekken van een immuunrepons in de muis), terwijl de 'human antibody phage display'-techniek alleen antistofbinders (ie, fragmenten van antistoffen, zoals scFv's of Fab's) tegen antigenen identificeert die in principe immunogeen/lichaamsvreemd voor de mens zijn/zijn geweest (lees: dus antistofbinders niet gericht tegen humane/lichaamseigen antigenen). Voor ons onderzoek en klinische toepassing is het van wezenlijk belang dat wij antistoffen oppikken tegen humane antigenen, bv humane oplosbare antigenen en cellulaire membraangebonden antigenen, zoals humane 'immunocheckpoint regulators' en receptoren.
- Een groot bijkomend voordeel van de immunisatie/hybridoma-techniek is dat wij in principe alleen die antistoffen op zullen gaan pikken met hoge affiniteit voor hun respectievelijke antigenen, omdat wij alleen hybridoma's zullen gaan maken van antilichaam producerende muizen B-cellen ontwikkeld na de secundaire/memory immuunrespons (in tegenstelling tot IgM's met lage affiniteit opgewekt tijdens/na de primaire immuunrespons). Maw we selecteren alleen 'isotype-switched' IgG-klasse antistoffen, welke de zgn 'natural' affiniteitsmaturing van de variabele domeinen al hebben ondergaan. Antistofbinders verkregen dmv de 'phage display'-techniek moeten vaak na selectie nog een affiniteitsmaturingstap(pen) ondergaan dmv mutagenese; een proces dat specifieke kennis vereist en bovendien een hele uitdaging kan zijn afhankelijk van gevonden sequenties van de variabele domeinen.
- Een tweede voordeel van de immunisatie/hybridoma-techniek is dat de verkregen antistoffen vroeg na selectie - dat is meestal binnen 4 maanden na de start van immunisatie - direct getest kunnen gaan op hun in vitro biologische activiteit in het juiste antistof-format (ie, bivalente IgG), terwijl dat dit met de geselecteerde monovalente scFv/Fab antistoffragmenten verkregen met de 'phage display'-techniek pas kan nadat deze zijn omgezet in het uiteindelijke bivalente IgG-format.
- Het intellectuele eigendom van de huidige beschikbare 'phage display'-technieken is erg complex, veelal is deze techniek alleen beschikbaar in gespecialiseerde bedrijven. Het vrije gebruik hiervan kan alleen bereikt worden na verkrijging van licentie(s); deze licentiekosten zijn niet op te brengen voor het IRAS of Bioceros.
- Zoals eerder genoemd, de fabricage van goede humane antistof 'libraries' - een verzameling aan humane genen die coderen voor humane antistoffen, welke een essentiële stap vormt voor het uiteindelijk succes van 'phage display' - vergt specifieke kennis, is een langdurig proces, en brengt hoge kosten met zich mee. Deze investeringskosten zijn niet op te brengen voor Bioceros of IRAS.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Verkrijgen van therapeutisch-werkzame monoclonale antistoffen tegen nader te bepalen immuun gerelateerde targets.

3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

In diverse ziektebeelden (autoimmuunziekten zoals IBD, multiple sclerosis, reumatoïde artritis, allergie, kanker etc) speelt het immuunsysteem een belangrijke rol, daarom is verder onderzoek hierna van belang. Monoclonale antistoffen zijn een essentiële tool voor het onderzoek maar kunnen als ze juist worden geselecteerd ook dienen als nieuw geneesmiddel voor de bovengenoemde indicaties. Kanker en ontstekingsaandoeningen zijn belangrijke oorzaken van ziekte en sterfte in de mens. Klassieke

therapieën schieten vaak tekort bij deze ziekten, en de verwachting is dat meer specifiek gerichte medicijnen (zoals antistoffen) een hogere therapeutische index zullen hebben. Het ontwikkelen van deze nieuwe antilichamen (die tegen tal van mogelijk therapeutische targets gericht kunnen zijn), kan dan ook in hoge mate bijdragen aan de behoefte aan nieuwe specifieke therapieën. De ontwikkeling van monoclonale antistoffen is in vergelijking met andere nieuwe therapeutica zeer effectief en vergt een relatief korte ontwikkeling. Als voorbeeld van de effectiviteit van deze opzet kan genoemd worden dat monoclonale antistoffen ontwikkeld door Bioceros (na immunisatie door onderzoekers van het IRAS) volgens de eerder genoemde methode tegen OX40 (CD134) en CTLA4 momenteel getest worden in klinische toepassingen.

3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

Specifieke antilichaam producerende cellen worden geselecteerd uit de milt van muizen die geïmmuniseerd worden met het eiwit/antigeen.

3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

Bioceros selecteert en doet de inschatting van de mogelijkheden van antistoffen tegen specifieke antigenen (commercieel, patent-technisch en praktisch). In samenwerking met het IRAS wordt de immunisatie tegen dit antigeen opgezet. Voor de immunisatie worden muizen geïnjecteerd met het antigeen samen met adjuvant (bijvoorbeeld RIBI). Na booster injecties (zonder adjuvant, 2 maal in 1 week) volgt een antilichaam titer bepaling uit bloed. Als deze titer niet hoog genoeg is volgen er nog meer boosterinjecties zonder adjuvant (maximaal 2). Hiervoor en hierna wordt er 1-2 wekelijks bloed afgenomen, tot de titer hoog genoeg is en de muizen gedood worden. Hierna worden de muizenlymfocyten geïsoleerd uit de milt en na selectie gefuseerd met myeloma cellen om ze te immortaliseren (genereren van hybridomas).

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

Door de immunisaties zal de antilichaamproductie tegen het antigeen gestimuleerd worden. Als deze productie optimaal is worden de dieren gedood, en de milt wordt gebruikt om antilichaam producerende cellen te isoleren, waarna hieruit hybridomas worden gegenereerd in vitro. Mocht er 14 dagen na de laatste (dus na maximaal 4) boosterinjectie geen of een te lage antilichaam titer bereikt worden wordt de immunisatie stopgezet en de muizen gedood.

De antilichaam titer in het bloed van de muizen bepaald dus het tijdstip waarop de muizen gedood worden en het in vitro hybridoma gedeelte wordt ingezet.

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

Volgnummer	Type dierproef
1	Immunisatie van muizen
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10800	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Universiteit Utrecht	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		1	Immunisatie van muizen

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Antilichaam-vormende cellen worden verkregen uit de milt van muizen en onsterfelijk gemaakt door ze te fuseren met tumorcellen. De zo verkregen hybridoma's maken continu de gewenste antilichamen. Om antistof-vormende cellen te verkrijgen is het nodig muizen te injecteren met het eiwit waartegen antistoffen gewenst zijn. Dit onderzoek wordt gedaan in proefdieren omdat de vorming van specifieke antistoffen een complex proces is, wat alleen in een intact lichaam (in vivo) plaats vindt. Muizen worden geïmmuniseerd voor het maken van antistoffen tegen eiwitten.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Dieren worden behandeld volgens de "Code of practice voor het immuniseren van proefdieren"

Immunisatie: Binnen 42 dagen worden muizen 2 tot 3 maal subcutaan of intraperitoneaal (afhankelijk van gebruikt adjuvant) geïnjecteerd met een oplossing met antigeen en adjuvant. Als adjuvant word bij voorkeur een olie-in-water emulsie gebruikt zoals bijvoorbeeld RIBI of SIGMA adjuvant (<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/s6322?lang=en®ion=NL>).

Booster: Na immunisatie krijgen muizen een intraperitoneale injectie (Booster) om de antilichaamproductie te stimuleren. Deze booster wordt in ieder geval 1 keer herhaald de volgende dag en hierna 1keer per 1-2 weken tot een optimale antilichaamspiegel is bereikt.

Bloedafname; Voor, tijdens en na de immunisatie en booster wordt bloed afgenomen om de antilichaam spiegels te bepalen. Maximaal 8 ml/kg/14 dagen.

Euthanasie: Bij een optimale of maximale antilichaamspiegel worden de dieren gedood. Hierna wordt de milt geïsoleerd om hieruit in vitro B cellen te verkrijgen en deze vervolgens op te kweken tot hybridoma's.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Dit voorstel beoogt antilichaamproducerende B cellen te genereren tegen antigenen om deze vervolgens op te kweken tot hybridoma's. Lymfocyten worden geselecteerd op antilichaam producerende B cellen, die hierna gefuseerd worden tot hybridoma. Deze hybridoma's worden hierna gescreend op moab produktie. Aangezien er

maar relatief heel weinig B-cellen specifiek zijn voor 1 onderdeel (epitoot) van 1 antigeen vergt dit proces veel lymfocyten als start. Het minimum aantal dieren van 3 per immunisatie is gekozen op basis van uitgebreide eerdere ervaring met immunisaties om voldoende specifieke B cellen te verkrijgen. De efficiëntie van antilichaamproductie (responders) is verschillend tussen individuele dieren of soms reageren niet (non-responders). Voor een succesvolle immunisatie en uiteindelijke screening is daarom drie dieren per immunisatie noodzakelijk. Er worden circa 200-250 x 10E6 lymphocyten geïsoleerd / 3 dieren, waarmee uiteindelijk ~40x 96-wells platen kunnen worden ingezet, hetgeen zal resulteren in voldoende hybridoma's om te screenen voor antilichaamproductie.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Mannelijke of vrouwelijke BALB/c of C57BL/6 muizen worden standaard gebruikt om (monoclonale) antistof-producerende B cellen in op te wekken. Beide veel gebruikte muizenstammen geven de hoogste en meest efficiënte antilichaamproductie.

Er zullen ongeveer 12 immunisaties per jaar ingezet worden (Bioceros verwacht 12 targets per jaar te willen inzetten). Dus totaal worden er 12 x 3 muizen x 5 jaar = 180 muizen aangevraagd.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

☐ Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

☐ Nee

☐ Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welk keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: De methode Kohler & Milstein voor de ontwikkeling van antistoffen is een zeer beproefde methode sinds meer dan 30 jaar.

Als alternatief voor antilichaam ontwikkeling wordt tegenwoordig vaak de "antibody phage display" genoemd (Wu CH, 2016, J Biomed Sci. 23: 8). Ieder mens heeft een verzameling van antistoffen. Deze antistoffen zijn gericht tegen ziekteverwerkers (lichaamsvreemde antigenen, zoals bacteriën en virussen). Via moleculaire biologische technieken kan de genetische informatie (zgn 'antibody library') welke codeert voor fragmenten (ie, variabele delen, zoals scFv's en Fab's) van deze antistoffen op bacteriofagen (een virus welke een bacterie kan infecteren) worden tentoongesteld (zgn 'phage display'). Voor 'phage display' wordt dus DNA dat codeert voor variabele delen van een antistof geplakt aan het bacteriofaag DNA dat codeert voor een eiwit aan de buitenkant van de bacteriofaag. Op deze manier komt de antistof aan de buitenkant van de bacteriofaag terecht, en iedere bacteriofaag brengt zodoende 1 uniek antistof tot expressie. Dit wordt gedaan met de gehele 'antibody library'. Vervolgens wordt deze verzameling van bacteriofagen geïncubeerd (dmv 'biopanning') met het antigeen van interesse. De niet-bindende bacteriofagen worden weggespoeld en de bindende bacteriofagen worden opnieuw vermenigvuldigd in hun gastheerbacterie. Uiteindelijk wordt de sequentie van het ingebrachte stuk DNA welke codeert voor de variabele delen van de specifiek bindende antistof bepaald, en vervolgens wordt deze genetische informatie gebruikt om humane IgG's te maken. Hierbij worden de geselecteerde variabele delen geplakt aan de constante delen (ie, bekende sequenties van zware en lichte ketens) van humane IgG's

Ofschoon de nieuwe 'antibody phage display'-techniek (Wu CH, 2016, J Biomed Sci. 23: 8) voor antilichaam ontwikkeling een goed alternatief is/lijkt te zijn ter vervanging van de klassieke immunisatie/hybridoma-techniek, heeft deze 'phage display'-techniek voor ons doel een aantal tekortkomingen en is geen alternatief in onze situatie. Zie hiervoor het projectvoorstel, 3.1.

Verfijning:

Gezien de ethische bezwaren tegen het gebruik van Freund's adjuvant, hebben wij in de afgelopen jaren onderzoek gedaan naar een alternatieve aanpak. In onze huidige aanvraag zullen wij minder belastende alternatieve adjuvants zoals Ribi's adjuvant (olie-in-water emulsie) gaan gebruiken. Deze gaven in eerdere immunisaties goede immuunresponsen, en bovendien zeer milde of geen bijwerkingen en weinig ongerief in geïnjecteerde muizen (in tegenstelling tot het water-in-olie emulsie Complete Freund's adjuvant).

Vermindering:

Per immunisatie wordt het minst mogelijke aantal dieren gebruikt die het meest efficiënt zal leiden tot de productie van antilichaam hybridomas.

Verfijning:

Muizen worden zeer regelmatig gemonitord, om eventueel ongerief tijdig te kunnen vaststellen, en onnodig lijden te voorkomen. Als (onverwacht) ernstig ongerief wordt vastgesteld worden muizen geëuthanaseerd.

Er zal in deze aanvraag geen gebruik gemaakt van het belastende (in)complete Freund's adjuvant, In onze huidige aanvraag zullen wij voornamelijk olie-in-water emulsies zoals Ribi als adjuvant gaan gebruiken, Dit adjuvant resulteerde in eerdere immunisaties milde of geen zichtbare bijwerkingen in en weinig ongerief bij betreffende muizen (in tegenstelling tot het water-in-olie emulsie Freund's adjuvant).

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Aangezien het welzijn zou kunnen worden aangetast door stress, wordt ernaar gestreefd de behandelingen zo kort en efficiënt mogelijk uit te voeren bij de dieren. De dieren worden behandeld door ervaren medewerkers zodat eventueel ongemak vanwege het hanteren tot een minimum wordt beperkt.

Zoals eerder genoemd is de keuze van het gebruikte adjuvant ook gebaseerd op het verminderen van pijn en lijden in de geïmmuniseerde muizen.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

nvt

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

☒ Nee

☐ Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

☒ Nee > Ga verder met vraag I.

☐ Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden

toegepast?
☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.
☐ Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.
I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen
Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?
Er zijn geen vormen van welzijnsaantasting die wij kunnen voorzien
Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.
Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.
J. Humane eindpunten
Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?
☐ Nee > Ga verder met vraag K.
☒ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.
algemene klinische verschijnselen(houding, gedrag, conditie vacht, etc.) worden dagelijks gemonitored. Bij verschijnselen die duiden op ernstig ongerief worden de dieren geëuthanaseerd. (HEP) Ook non-responders (geen antilichaam titer) worden eerder uit de proef genomen (HEP).
Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?
Naar aanleiding van eerdere experimenten wordt geschat dat minder dan 5% van de dieren kans maakt de beschreven HEP te behalen
K. Classificatie van ongerief
Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.
'matig " Het ongerief blijft beperkt tot stress als gevolg van het hanteren/fixeren van de dieren bij het uitvoeren van verschillende behandelingen. Maar vanwege het gebruik van een adjuvans en het aantal injecties en bloedafnames toch matig ongerief.
Einde experiment
L. Wijze van doden
Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?
☐ Nee
☒ Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.
Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?
☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.
☒ Ja



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht



Postbus 12007

3501 AA UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD108002017851

Bijlagen

2

Datum 1 februari 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte ,

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 31 januari 2017. Het gaat om uw project "Immunisaties ten behoeve van het verkrijgen van hybridomas". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD108002017851. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Factuur

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan kan uw aanvraag buiten behandeling worden gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:

1 februari 2017

Aanvraagnummer:

AVD108002017851

Datum:
1 februari 2017
Aanvraagnummer:
AVD108002017851

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 10800
Naam instelling of organisatie: Universiteit Utrecht
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 30275924
Postbus: 12007
Postcode en plaats: 3501 AA UTRECHT
IBAN: NL27INGB0000425267
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: Universiteit Utrecht

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: Onderzoeker
Afdeling: [REDACTED]
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: Associate professor
Afdeling: [REDACTED]
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

Datum:
1 februari 2017
Aanvraagnummer:
AVD108002017851

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u? ☒ Nieuwe aanvraag
☐ Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
☐ Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Over uw project

Geplande startdatum: 1 maart 2017
Geplande einddatum: 1 maart 2023
Titel project: Immunisaties ten behoeve van het verkrijgen van hybridomas
Titel niet-technische samenvatting: Verkrijgen van specifieke antilichamen via immuuncellen uit de muis
Naam DEC: DEC Utrecht
Postadres DEC: Postbus 85500 3508 GA Utrecht
E-mailadres DEC: dec-utrecht@umcutrecht.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1035,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: ☒ Projectvoorstel
☒ Beschrijving Dierproeven
☒ Niet-technische samenvatting
Overige bijlagen: ☒ DEC-advies

Ondertekening

Naam: 
Functie: 
Plaats: Utrecht
Datum: 31 januari 2017

Datum:

1 februari 2017

Aanvraagnummer:

AVD108002017851



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UU-ASC
Postbus 80.011
3508 TA UTRECHT


**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD108002017851
Bijlagen
2

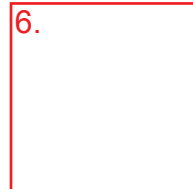
Datum 1 februari 2017
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 1 februari 2017
Vervaldatum: 3 maart 2017
Factuurnummer: 170851
Ordernummer: CB.841910.3.01.011

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD108002017851	€ 1035,-

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht



Postbus 12007

3501 AA UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD108002017851

Datum 14 februari 2017
Betreft aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte ,

Op 31 januari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Immunisaties ten behoeve van het verkrijgen van hybridomas" met aanvraagnummer AVD108002017851. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

Onduidelijkheden

Kunt u de criteria op basis waarvan targets geselecteerd worden opnemen in de aanvraag?

Leges

De leges die u verschuldigd bent zijn nog niet door ons ontvangen of de betaling is nog niet verwerkt. Uw aanvraag is niet compleet als de leges niet zijn ontvangen.

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Stuur u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Datum:

14 februari 2017

Aanvraagnummer:

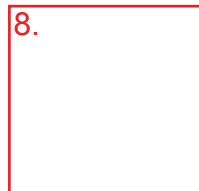
AVD108002017851

Aanvullende informatie bij aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD108002017851

De volgende selectiecriteria worden gebruikt om de targets voor immunisaties te bepalen:

1. De strategie is om therapeutische antilichamen tegen targets te selecteren voor de behandeling van ziekten waar nog een grote medische nood bestaat (zgn. *'unmet medical need'*), zoals kanker, autoimmuunziekten, zeldzame/weesziekten, en infectieziekten. Voorbeelden van therapeutische (remmende of activerende) antilichamen, die in het verleden via deze aanpak door Bioceros zijn gemaakt, waren gericht tegen targets zoals *'immune checkpoint regulators'* op witte bloedcellen (b.v. CD40, OX40 en HVEM) en complement factoren (b.v. complement C1 en C2). Van deze voorbeelden wordt er op dit moment 1 getest in klinische studies en het is de verwachting dat de volgende in 2018 de kliniek ingaat. De andere voorbeelden zijn in verschillende stadia van pre-klinische ontwikkeling.
2. Omdat de investeringen na de immunisatie enorm zullen zijn, zal er naast het bovengenoemde selectie criterium ook nog aan een aantal andere randvoorwaarden voldaan moeten worden. Als eerste zal er een uitgebreid inbreukonderzoek worden gedaan (ook wel *'freedom to operate'* of kortweg FTO-onderzoek genoemd; dit om te voorkomen dat er geen inbreuk op bestaande octrooirechten van derden wordt gemaakt, en zodoende te waarborgen dat de ontwikkeling van nieuwe antilichamen niet wordt geblokkeerd). Ten tweede zal er een marktonderzoek (is er behoefte aan de nieuwe aanpak en wat is de concurrentie?) worden uitgevoerd. Ten slotte en misschien wel de belangrijkste vraag die beantwoord dient te worden: Kan het laboratorium-technisch onderzoek relatief eenvoudig worden uitgevoerd om te faciliteren dat de juiste antilichamen geselecteerd kunnen worden voor verdere ontwikkeling?

Door deze zeer strenge selectieprocedure vallen soms ook wetenschappelijk interessante strategieën af omdat verder ontwikkeling mogelijk geblokkeerd kan worden, maar daarentegen worden hierdoor onnodige investeringen en onnodig gebruik van proefdieren voor immunisaties voorkomen.



A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer : 2016.II.814.026
2. Titel van het project : Immunisaties ten behoeve van het verkrijgen van hybridomas
3. Titel van de NTS : Immunisatie ten behoeve van het maken van antistoffen tegen
(menselijke) eiwitten

4. Type aanvraag:

- ☒ nieuwe aanvraag projectvergunning
☐ wijziging van vergunning met nummer :

5. Contactgegevens DEC

Naam DEC : DEC Utrecht
Telefoonnummer contactpersoon : 088 – 75 59 247
Emailadres contactpersoon : dec-utrecht@umcutrecht.nl

6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):

- ☒ ontvangen door DEC: 02-11-2016
☐ aanvraag compleet:
☒ in vergadering besproken: 16-11-2016
☐ anderszins behandeld:
☒ termijnonderbreking(en) van / tot : 22-11-2016/06-01-2017
☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
☐ aanpassing aanvraag:
☒ advies aan CCD: 24-01-2017

7. De aanvraag is afgestemd met de IvD en deze is hiermee akkoord.

8. Eventueel horen van aanvrager

- Datum:
- Plaats:
- Aantal aanwezige DEC-leden:
- Aanwezige (namens) aanvrager:
- Gestelde vragen en verstrekte antwoorden:
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag.

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum vragen: 22-11-2016
- Datum antwoord: 06-01-2017
- Gestelde vragen en antwoorden:

Projectvoorstel

- 3.1 Achtergrond: U schrijft niets over hoe de gemaakte antistoffen getest worden. Doet u dat in andere projecten? Zo ja, dan in het projectvoorstel noemen dat het testen geen onderdeel is van de projectaanvraag. Zo niet, dan is donormateriaal nodig. Ook dit moet dan worden opgenomen in het projectvoorstel.

Dit wordt nu vermeld in de tekst.

- 3.1 Achtergrond: In het projectvoorstel wordt phage display genoemd als alternatief voor het ontwikkelen van antilichamen. De DEC mist echter een korte uitleg van deze techniek. Daarnaast is de motivering voor het niet toepassen van deze methode onvoldoende. Er wordt te vaak genoemd dat de methode niet wordt toegepast vanwege tijd- en kostenoverwegingen, terwijl de technische en wetenschappelijke bezwaren onderbelicht blijven. Ook is het de DEC niet helder waarom de alinea over de ethische bezwaren van Friends adjuvant hier genoemd wordt, dit hoort bij verfijning. De DEC raadt u aan om het geheel samen te vatten in enkele zinnen, waarbij kort wordt toegelicht wat voor een techniek phage display is en waarom deze techniek voor dit project geen optie is. De alinea over de ethische bezwaren van Friends adjuvant dient geheel verplaatst te worden naar verfijning (bijlage, punt D, vervanging, vermindering en verfijning).

Een uitleg is nu toegevoegd aan de tekst.

De technische en wetenschappelijke bezwaren worden genoemd in deze aanvraag:

- *Allereerst is het kiezen van de juiste en meest complete phage display library (het aantal aminozuur residuen) met de juiste stabiliteit en kwaliteit niet eenvoudig en nog niet mogelijk zonder grote, zo niet enorme investeringen in tijd en reagentia. Dit is nu en in de nabije toekomst niet mogelijk in de laboratoria van XXX en XXX.*
- *Verder is het essentiële verschil tussen de twee technieken voor ons specifieke doel dat de immunisatie/hybridoma-techniek resulteert in antistoffen tegen humane antigenen die immunogeen/lichaamsvreemd zullen zijn voor de muis (i.e., opwekken van een immuunrepons in de muis), terwijl de 'human antibody phage display'-techniek alleen antistofbinders (ie, fragmenten van antistoffen, zoals scFv's of Fab's) tegen antigenen identificeert die in principe immunogeen/lichaamsvreemd voor de mens zijn/zijn geweest (lees: dus antistofbinders niet gericht tegen humane/lichaamseigen antigenen). Voor ons onderzoek en klinische toepassing is het van wezenlijk belang dat wij antistoffen oppikken tegen humane antigenen, bv humane oplosbare antigenen en cellulaire membraangebonden antigenen, zoals humane 'immunocheckpoint regulators' en receptoren.*
- *Een groot bijkomend voordeel van de immunisatie/hybridoma-techniek is dat wij in principe alleen die antistoffen op zullen gaan pikken met hoge affiniteit voor hun respectievelijke antigenen, omdat wij alleen hybridoma's zullen gaan maken van antilichaam producerende muizen B-cellen ontwikkeld na de secundaire/memory immuunrespons (in tegenstelling tot IgM's met lage affiniteit opgewekt tijdens/na de primaire immuunrespons). Maw we selecteren alleen 'isotype-switched' IgG-klasse antistoffen, welke de zgn 'natural' affiniteitsmaturing van de variabele domeinen al*

hebben ondergaan. Antistofbinders verkregen dmv de 'phage display'-techniek moeten vaak na selectie nog een affiniteitsmaturatiestap(pen) ondergaan d.m.v. mutagenese; een proces dat specifieke kennis vereist en bovendien een hele uitdaging kan zijn afhankelijk van gevonden sequenties van de variabele domeinen.

- Een tweede voordeel van de immunisatie/hybridoma-techniek is dat de verkregen antistoffen vroeg na selectie - dat is meestal binnen 4 maanden na de start van immunisatie - direct getest kunnen gaan op hun in vitro biologische activiteit in het juiste antistof-format (ie, bivalente IgG), terwijl dat met de geselecteerde monovalente scFv/Fab antistoffragmenten verkregen met de 'phage display'-techniek pas kan nadat deze zijn omgezet in het uiteindelijke bivalente IgG-format.

Uiteraard zijn technische, wetenschappelijke en tijd en kosten bezwaren met elkaar verbonden en lastig uit elkaar te zien. Zoals genoemd in de tekst: "...de fabricage van goede humane antistof 'libraries' - een verzameling aan humane genen die coderen voor humane antistoffen, welke een essentiële stap vormt voor het uiteindelijk succes van 'phage display'...." vergt specifieke kennis, is een langdurig proces, en brengt hoge kosten met zich mee."

De reden van vermelden van de ethische bezwaren van Friends adjuvant was dat het gebruik van het belastende Freund's adjuvant een vaak genoemd bezwaar was tegen in vivo immunisaties. Dit is verplaatst naar verfijning.

- 3.2 Doel: Het doel sluit niet aan bij wat u in 3.1 zegt; het is te ruim geformuleerd. Uw doel is het maken van een antistof, niet het ontwikkelen van nieuwe behandelingen. Het doel zou geformuleerd kunnen worden als: het maken/producen van therapeutisch-werkzame monoclonale antistoffen tegen nader te bepalen immuun gerelateerde targets. Dit is nu gewijzigd.
- 3.4 Onderzoeksstrategie: De DEC vraagt zich af of altijd een combinatie van antigeen met het adjuvant Ribi wordt toegepast? Zo niet, dan dient een beslisboom in het projectvoorstel opgenomen te worden, waarbij u aangeeft welk antigeen wanneer in welk type adjuvant gaat, inclusief het daarbij te verwachten ongerief. De DEC wil graag zien of de combinatie van antigeen en adjuvant de beste match is (met het minst mogelijke ongerief).

Er zal altijd gebruik gemaakt worden van een adjuvant. In principe gebruiken we, door onze ervaring hiermee, het adjuvant Ribi (ook bekend als Sigma Adjuvant System). Eventueel, bij lage hoeveelheden beschikbaar antigeen, zal er mogelijk een ander olie-in-water emulsie gebruikt worden. In het Sigma Adjuvant System is er namelijk relatief veel antigeen nodig. Uitgebreide literatuur laat zien dat een adjuvant versterkend of zelfs noodzakelijk is voor de ontwikkeling van een antilichaam respons, vandaar dat we altijd gebruik zullen maken van de combinatie antigeen met adjuvant.

Bijlage 1

- Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Ook hier zegt u: "... met als doel om ziekten te behandelen en/of te bestuderen". De DEC constateert dat dit op meerdere

plekken in de aanvraag terugkomt. Om die reden verzoekt de DEC u de gehele aanvraag te herzien en helder weer te geven dat in deze studie niet de ziekte behandeld/bestudeerd wordt, maar dat antistoffen gemaakt worden waarmee ziekte behandeld kan worden.

Dit is nu verwijderd in deze tekst.

- B. De dieren: Hier noemt u dat er 12 immunisaties per jaar plaatsvinden. Het is niet helder waarop dit aantal is gebaseerd. Graag nader onderbouwen.

Dit is een aannname vanuit de opdrachtgever, XXX. Zij verwachten ongeveer 12 targets per jaar te willen starten. Dit wordt nu vermeld in de tekst.

- D. Vervanging, vermindering en verfijning: Zie de opmerking bij 3.1 over phage display. Graag ook hier toepassen.

Dit is nu vermeld in de tekst.

Niet Technische Samenvatting

- 3.1 Beschrijving doelstellingen: Ook hier dient het doel aangepast te worden. Na 'maken' kan een punt gezet worden en vervolgens kunt u, bijvoorbeeld, zeggen: '*Deze antistoffen worden door anderen gebruikt om ...*' etc. Tevens raadt de DEC u aan om in de tweede zin kan 'goed functionerend' te verwijderen.

Dit is nu gewijzigd in deze tekst.

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)

- Aard expertise:
- Deskundigheid expert:
- Datum verzoek:
- Strekking van het verzoek:
- Datum expert advies:
- Advies expert:

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Er zijn geen DEC-leden betrokken bij het betreffende project.

C. Beoordeling (inhoud):

1. De aanvraag is toetsbaar en heeft voldoende samenhang. Verschillende onderzoeksgroepen werken aan de ontwikkeling van nieuwe en meer specifieke therapieën voor diverse immuungerelateerde ziektebeelden, zoals reumatoïde artritis, multipale sclerose en kanker. Grote belangstelling gaat daarbij uit naar de zogenaamde immuuntherapie. Bij deze vorm van therapie wordt het immuunsysteem op de juiste plaats gestimuleerd dan wel afgeremd met

behulp van specifiek-functionele monoclonale antilichamen. Deze specificiteit kan leiden tot een betere werkzaamheid, grotere therapeutische index en kleinere kans op bijwerkingen. De productie van monoclonale antilichamen vereist kennis en kunde die niet alle onderzoeksgroepen in huis hebben. De aanvrager van dit project beschikt wel over deze kennis en kunde, en wil daarom met behulp van de experimenten die in de voorliggende projectaanvraag beschreven worden de komende jaren structureel – op verzoek van andere onderzoeksgroepen – monoclonale antilichamen maken.

2. Voor zover de DEC bekend, is er geen mogelijk tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan.
3. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën sluiten aan bij de hoofddoelstelling.

Belangen en waarden

4. Het directe doel van het project is het maken van monoclonale antilichamen tegen nog nader te bepalen immuungerelateerde targets. Het uiteindelijke doel van het project is om met de productie van deze monoclonale antilichamen bij te dragen aan de ontwikkeling van nieuwe therapieën tegen diverse immuungerelateerde ziektebeelden. Dergelijke therapieën kunnen door andere onderzoeksgroepen pas ontwikkeld worden wanneer deze kunnen beschikken over eerdergenoemde antilichamen. De DEC is daarom van mening dat er in voldoende mate een relatie is tussen het directe en het uiteindelijke doel.
5. De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn: de proefdieren, de doelgroep (patiënten met immuungerelateerde ziektebeelden) en het onderzoeksveld. De morele waarden die voor de proefdieren in het geding zijn: welzijn (gezondheid en stress) en rechtvaardigheid (intrinsieke waarde en integriteit). De morele waarden die voor de doelgroep worden bevorderd zijn: welzijn (kwaliteit van leven) en rechtvaardigheid (beschikbaarheid van effectieve en veilige therapieën).
6. Er is geen sprake van substantiële milieueffecten.

Proefopzet en haalbaarheid

7. De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn voldoende gewaarborgd en dragen eraan bij dat de doelstellingen behaald kunnen worden, dat aan de 3V-beginselen voldaan kan worden en dat voorkomen kan worden dat mens, dier en milieu negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven. De onderzoeksgroep heeft veel ervaring met de productie van monoclonale antilichamen met behulp van muizen, en heeft de kennis en faciliteiten die nodig zijn om de beschreven experimenten in de komende jaren routinematig uit te kunnen voeren. Om aan te geven wat de haalbaarheid is van de doelstellingen: immunisaties die in het verleden zijn uitgevoerd hebben monoclonale

antilichamen opgeleverd, waarvan de werkzaamheid momenteel in een klinische setting onderzocht wordt.

8. Het project is goed opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters sluiten logisch en helder aan bij de aangegeven doelstellingen en de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Voor elke immuungerelateerde target zal eenzelfde experiment uitgevoerd worden. Muizen worden eerst geïnjecteerd met het betreffende antigeen in combinatie met een geschikt adjuvans. Hierna volgen in een periode van enkele weken meerdere boosterinjecties met het antigeen (zonder adjuvans). Met behulp van meerdere bloedafnamen wordt de antilichaamtiter in de muizen gemonitord. Zodra deze hoog genoeg is wordt de betreffende muis geëuthanaseerd en worden zoveel mogelijk B-cellen uit de milt geïsoleerd. Daarna volgt een *ex vivo*-procedure – die buiten deze projectaanvraag valt – waarmee hybridomas gegenereerd worden: verschillende geselecteerde B-cellen worden geïmmortaliseerd door ze met myelomacellen te laten fuseren. Vervolgens wordt uit deze gegenereerde cellijnen de hybridoma geselecteerd die het gewenste antilichaam genereert. Criteria daarvoor zijn werkzaamheid (de gewenste biologische activiteit tegen de betreffende target) en veiligheid (geen kruisreactiviteit).

Welzijn dieren

9. Er is geen sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:
- ☐ Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
 - ☐ Niet-menselijke primaten (10e)
 - ☐ Dieren in/uit het wild (10f)
 - ☐ Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I EU richtlijn)
 - ☐ Zwerfdieren (10h)
 - ☐ Hergebruik (1e lid 2)
 - ☐ Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
 - ☐ Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
 - ☐ Dodingsmethode niet volgens bijlage IV EU richtlijn (13c lid 3)
10. De dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de EU richtlijn.
11. Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Voor alle dieren in bijlage 1 wordt het cumulatieve ongerief ingeschat als matig. Dit ongerief is het gevolg van stress die gepaard gaat met het hanteren/fixeren van de dieren, van herhaaldelijke injecties en bloedafnamen, en van eventuele bijwerkingen van adjuvantia.

12. De integriteit van de dieren wordt aangetast door herhaaldelijke injecties en bloedafnamen (fysieke aantasting).
13. De humane eindpunten zijn in de bijlage dierproeven goed gedefinieerd en het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat. Men houdt er rekening mee dat minder dan 5% van de dieren het humaan eindpunt bereikt. Daarbij gaat het om dieren waarbij het gebruikte adjuvans onverwacht ernstige bijwerkingen heeft, maar ook om de zogenaamde *non-responders*. Laatstgenoemde categorie dieren ondervindt niet meer dan matig ongerief, maar wordt voortijdig uit de proef genomen omdat de doelstelling van het experiment niet behaald kan worden.

3V's

14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. De onderzoekers hebben in de projectaanvraag helder uiteengezet waarom men kiest voor de klassieke hybridomatechniek voor het maken van monoclonale antilichamen, en niet voor de nieuwe proefdiervrije techniek: de zogenaamde 'human antibody phage display' techniek. Een belangrijk argument hierbij is het gegeven dat laatstgenoemde techniek antilichamen oplevert die in principe gericht zijn tegen lichaamsvreemde/niet-humane antigenen. Dit in tegenstelling tot de klassieke hybridomatechniek, die antilichamen oplevert die gericht zijn tegen lichaamseigen/humane antigenen. En dat zijn juist de antilichamen die geschikt zijn voor de beoogde te ontwikkelen immunotherapieën. Daarnaast is het zo dat de klassieke hybridomatechniek alleen antilichamen oplevert die een hoge affiniteit hebben voor het betreffende antigeen. Bij de 'human antibody phage display' techniek is dit niet het geval, en moeten geselecteerde antilichamen nog een complex proces van affiniteitsmaturing ondergaan, voordat het de gewenste specifiek-functionele antilichamen zijn.
15. Het aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en er is een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. De berekening van het benodigde aantal dieren is rechttoe rechtaan. Uit eerder uitgevoerde vergelijkbare experimenten is gebleken dat per immunisatie met een bepaald antigeen een groepsgrootte van drie muizen nodig is om voldoende monoclonale antilichamen te verkrijgen. Het totaal aantal benodigde dieren voor de duur van het hele project is gebaseerd op deze groepsgrootte, en op het aantal targets waarvoor andere onderzoeksgroepen antilichamen nodig hebben.
16. Het project is in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project is zodanig opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Door toepassing van andere adjuvantia dan het Complete Freund's adjuvant wordt het ongerief voor de dieren tot een minimum beperkt.

17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Dieren van beide geslachten zullen in gelijke mate worden ingezet.
19. De dieren worden in het kader van het project gedood, omdat de doelstellingen van het project alleen behaald kunnen worden door zoveel mogelijk (verschillende) B-cellen uit de milten van (geëuthanaseerde) muizen te isoleren. De dieren worden volgens een passende en in bijlage IV van de EU richtlijn genoemde methode gedood.
20. Omdat in het projectvoorstel muizen worden aangevraagd is de vraag over herplaatsing/hergebruik niet van toepassing.

NTS

21. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

1. De morele vraag die de DEC dient te beantwoorden is of het belang van dit onderzoek, gericht op het maken van monoclonale antilichamen tegen nog nader te bepalen immuungerelateerde targets, de onvermijdelijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de gebruikte proefdieren kan rechtvaardigen.
2. Er vindt een aanzienlijke aantasting van welzijn en integriteit van de proefdieren plaats, met matig ongerief. Daar staat tegenover dat van dit project verwacht wordt dat het nieuwe monoclonale antilichamen oplevert, welke kunnen bijdragen aan belangrijke wetenschappelijke ontwikkelingen op het gebied van nieuwe immuuntherapieën. De DEC kent daar veel gewicht aan toe. Op termijn kunnen deze nieuwe ontwikkelingen van substantieel belang zijn voor mensen met inflammatoire aandoeningen waar het immuunsysteem een rol speelt, zoals rheumatoïde arthritis, IBD, multiple sclerose, Alzheimer's, infectieuze ziekten als Ebola en veel soorten kanker, waarvoor nu geen geschikte therapie beschikbaar is. Indien de hierboven genoemde doelstelling behaald wordt, dan zal dit project dus een reeks monoclonale antilichamen opleveren die specifiek-functioneel werkzaam zijn tegen bepaalde immuungerelateerde targets. Het is aannemelijk dat deze doelstelling behaald zal worden. Daarvoor is de inzet van proefdieren noodzakelijk, maar de onderzoekers doen al het mogelijke om het ongerief voor de dieren en het aantal dieren tot een minimum te beperken.
3. Op grond van het bovenstaande is de DEC van oordeel dat het maken van monoclonale antilichamen tegen nog nader te bepalen immuungerelateerde targets een substantieel belang vertegenwoordigt en dat dit substantiële belang opweegt tegen de aanzienlijke aantasting van

het welzijn en de integriteit van de proefdieren. Het gebruik van de proefdieren zoals beschreven in de aanvraag is daarmee gerechtvaardigd.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

☐ De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

☒ De DEC adviseert de vergunning te verlenen, en daarbij als voorwaarde op te nemen dat de onderzoeker gedurende het project periodiek aan de CCD terugkoppelt welke antilichamen geproduceerd zijn.

☐ De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3. Er zijn geen knelpunten/dilemma's naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies.



Centrale Commissie Dierproeven

10.

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht

[REDACTED]

Postbus 12007

3501 AA UTRECHT



Centrale Commissie

Dierproeven

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

centralecommissiedierproeven.nl

0900 28 000 28 (10 ct/min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD108002017851

Bijlagen

1

Datum 6 maart 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED],

Op 31 januari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Immunisaties ten behoeve van het verkrijgen van hybridomas" met aanvraagnummer AVD108002017851. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 28 februari 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Op ons verzoek heeft u de criteria op basis waarvan u de targets selecteert verhelderd.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning.

De algemene voorwaarde(n) zijn opgenomen op grond van artikel 1d lid 4, artikel 10a1 lid 2, artikel 10 lid 2 en/of artikel 10a3 van de wet.

Vanwege de ethische afweging stelt de CCD een specifieke voorwaarde betreffende het gebruik van andere dan in de aanvraag genoemde adjuvantia om het gebruik van adjuvantia in te kaderen en hiermee het ongerief voor de dieren te borgen. Om een goed beeld van de targets toegepast in uw project te houden, is een voorwaarde betreffende jaarlijkse terugkoppeling opgenomen.

U kunt met uw project "Immunisaties ten behoeve van het verkrijgen van hybridomas" starten. De vergunning wordt afgegeven van 6 maart 2017 tot en met 1 maart 2022. Deze termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat De einddatum is anders dan u heeft aangevraagd, omdat een vergunning een maximale looptijd van 5 jaar kan hebben.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Datum:
6 maart 2017
Aanvraagnummer:
AVD108002017851

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC Utrecht gevoegd. Dit advies is opgesteld op 24 januari 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

In aanvulling op het DEC-advies stelt de CCD voorwaarden. De voorwaarden staan in de vergunning beschreven. Voor het overige nemen wij het advies van de DEC over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op

<http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

Datum:
6 maart 2017
Aanvraagnummer:
AVD108002017851

ir. G. de Peuter
Algemeen Secretaris

Bijlagen:

- Vergunning
- Hiervan deel uitmakend:
 - DEC-advies
 - Weergave wet- en regelgeving



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan
Naam: Universiteit Utrecht
Adres: Postbus 12007
Postcode en plaats: 3501 AA UTRECHT
Deelnemersnummer: 10800

deze projectvergunning voor het tijdvak 6 maart 2017 tot en met 1 maart 2022, voor het project "Immunisaties ten behoeve van het verkrijgen van hybridomas" met aanvraagnummer AVD108002017851, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Utrecht. Hierbij is afgeweken van het DEC-advies. Er worden aanvullende voorwaarde(n) gesteld. Zie samenvatting
De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Onderzoeker.
De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 31 januari 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 31 januari 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 31 januari 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 24 januari 2017, ontvangen op 31 januari 2017.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 28 februari 2017

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1 Immunisatie van muizen				
	Muizen (<i>Mus musculus</i>) /	180	100% Matig	

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet op de dierproeven zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

Gedurende de looptijd van de vergunning, koppelt de aanvrager aan de CCD terug tegen welke antigenen antilichamen zijn geproduceerd, gebruik makend van welke adjuvantia en met welke doelstelling. Deze terugkoppeling moet uiterlijk 31 januari door de CCD ontvangen zijn en rapporteert over het afgelopen kalenderjaar (1 januari - 31 december). Ook wanneer er geen dierstudies zijn uitgevoerd wordt dit gerapporteerd. De CCD kan op basis van deze terugkoppeling aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken. Wanneer u overtuigend en onbetwistbaar kan aantonen dat er geen gegevens over de geteste stof kunnen worden vrijgegeven omdat deze als vertrouwelijke informatie is geclassificeerd kunt u deze informatie buiten de rapportage houden

Aanvraagnummer:
AVD108002017851

In artikel 10, lid 1 sub a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.

Andere adjuvantia dan genoemd in de aanvraag dienen vooraf te worden afgestemd met de IvD. Er mogen geen adjuvantie (stoffen die de immuunrespons stimuleren) gebruikt worden die hoger ongerief veroorzaken dan de in de bijlage genoemde voorbeelden van adjuvantia.



Aanvraagnummer:

AVD108002017851

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister een ontheffing is verleend.

Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn

Aanvraagnummer:
AVD108002017851

kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijven schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13d volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13c is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.

De Minister heeft vrijstelling ontheffing verleend volgens artikel 13c, die de afwijkende methode van doden op basis van wetenschappelijke motivering ten minste even humaan acht als de in de richtlijn opgenomen passende methoden.