

CRISPR & Het Dier

Implicaties van genome editing voor maatschappij en beleid

Signalering
CGM/180501-01



Colofon

Ontwerp: Avant la lettre, Utrecht

Infographics: Fallen Serenity Productions

Druk: Damen Drukkers, Werkendam



© COGEM, 1 mei 2018

Delen uit deze publicatie mogen voor niet-commerciële doeleinden worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: Commissie Genetische Modificatie (COGEM), 2018. CRISPR & Het Dier, Implicaties van genome editing voor maatschappij en beleid, COGEM signalering CGM/180501-01.

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
Mevrouw drs. S. van Veldhoven-van der Meer
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 01 mei 2018
KENMERK CGM/180501-01
ONDERWERP signalering 'CRISPR en het Dier'

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Hierbij bied ik u de signalering 'CRISPR en het Dier; implicaties van genome editing voor maatschappij en beleid' aan.

Samenvatting:

In deze signalering worden de wetenschappelijke ontwikkelingen en beleidsmatige implicaties van genome editing bij dieren in kaart gebracht. Met genome editing technieken zoals CRISPR-Cas kunnen gericht, efficiënt, en gemakkelijk kleine en grote wijzigingen worden aangebracht in het DNA van dieren. De mogelijke toepassingen zijn te vinden bij (landbouw)huisdieren, proefdieren, medische toepassingen (xenotransplantatie) en populatiecontrole (gene drives in (wilde) dieren en insecten in het milieu of zelfs het terugbrengen van uitgestorven diersoorten). Milieu- en ecosysteemttoepassingen zijn waarschijnlijk niet geografisch beperkt en vragen om internationale samenwerking en overleg.

Gezien het internationale karakter van wetenschappelijk onderzoek en handel in dieren, hun geslachtsdelen en dierlijke producten, is het onvermijdelijk dat Nederland en Europa hier mee te maken krijgen. Een complicerende factor is dat de met behulp van CRISPR-Cas aangebrachte wijzigingen in het DNA van organismen moeilijk of niet te onderscheiden zijn van mutaties die van nature optreden. Dit brengt zowel beleidsmatige (handhaving regelgeving en detectie) als maatschappelijke (keuzevrijheid) uitdagingen met zich mee.

Sommige nieuwe toepassingen kunnen naast voordelen voor de mens ook relatieve voordelen of mogelijke nadelen voor het dier hebben. Dit kan leiden tot een andere uitkomst van de afweging van risico's, voordelen en ethische aspecten dan voorheen.

De toenemende snelheid van de technologische ontwikkelingen vraagt om een tijdige positiebepaling van overheid en betrokken stakeholders op mogelijke import van genome edited dieren en hun producten. Het is daarbij van belang in overleg te treden met wetenschappers, fokkers, bedrijfsleven en maatschappelijke stakeholders. In deze signalering doet de COGEM handreikingen over hoe dit proces georganiseerd kan worden.

De volledige signalering treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,



Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

Samenvatting

Met *genome editing* technieken zoals CRISPR-Cas kunnen gericht, efficiënt, en gemakkelijk kleine en grote wijzigingen worden aangebracht (gerichte mutagenese) in het erfelijk materiaal (DNA) van organismen. De opkomst van genome editing technieken lost verschillende technische barrières op voor het teweegbrengen van genetische wijzigingen bij planten, dieren en mensen. Hierdoor komt de focus te liggen op ethische en governance vraagstukken, zoals bij de eventuele toepassing van kiembaanmodificatie bij mensen, waarover de COGEM in 2017 een signalering uitbracht.

Ook de toepassing van biotechnologie bij dieren heeft door genome editing bij dieren een nieuwe impuls gekregen. De mogelijke toepassingen zijn breed en te vinden bij (landbouw) huisdieren, proefdieren, medische toepassingen zoals xenotransplantatie en populatiecontrole van (wilde) dieren en insecten in het milieu.

De ontwikkelingen rondom genome editing bij dieren vinden voornamelijk plaats buiten Europa. Gezien het internationale karakter van wetenschappelijk onderzoek en fokkerij, en daarnaast de handel in dieren, hun geslachtscellen en dierlijke producten, is het onvermijdelijk dat Nederland en Europa hier mee te maken krijgen. Een complicerende factor hierbij is dat de met behulp van CRISPR-Cas aangebrachte wijzigingen in het DNA van organismen vaak moeilijk of niet te detecteren en onderscheiden zijn van mutaties in het DNA die van nature optreden. Dit betekent dat in brede zin - zowel op politiek, beleidsmatig, beroepsmatig, wetenschappelijk en maatschappelijk niveau - nagedacht moet worden over de vraag wat de implicaties van deze ontwikkelingen zijn.

Toepassingen genome editing dieren zeer gevarieerd

Het doel van de meeste toepassingen van genome editing bij landbouwhuisdieren (koeien, varkens, geiten, schapen en kippen) komt in grote mate overeen met de huidige praktijk rondom veredeling en fokkerij van deze dieren. De toepassingen zijn gericht op productieverhoging, ziekteresistentie en productkwaliteit. Een aantal toepassingen van genome editing is nabij marktrijp. Sommige toepassingen zijn in principe ook voor de Nederlandse veehouderij relevant (zoals productieverhoging en productkwaliteit) of zelfs urgent (zoals ziekteresistentie). Echter, het introduceren van een nieuwe eigenschap in bestaande populaties (waarbij variatie en andere zorgvuldig geselecteerde eigenschappen behouden moeten worden) zal naar verwachting vanaf de eerste introductie minimaal 5 tot 10 jaar in beslag nemen. De markttoelating van genome editing bij dieren zelf is daarnaast een onvoorspelbaar proces. In Europa zijn geen genetisch gemodificeerde (gg-)dieren toegelaten tot de markt en in de Verenigde Staten (VS) nam de toelating van het eerste gg-dier voor voedseldoeleinden (een gg-zalm) bijna 20 jaar in beslag.

Wereldwijd worden proefdieren gebruikt voor wetenschappelijk- en veiligheidsonderzoek. Genome editing technieken maken het eenvoudiger, sneller en goedkoper om specifieke en complexere ziektemodellen te maken in proefdieren voor onderzoek. Mogelijk zal dit leiden tot een toename in het absolute aantal gebruikte gg-proefdieren of een verschuiving naar het gebruik van andere diersoorten als proefdier. Internationale verschillen in wetgeving kunnen bovendien bijdragen aan zogeheten *moral freeriding*, wanneer in Nederland wel gebruik wordt gemaakt van producten, toepassingen of resultaten van onderzoek dat echter niet in Nederland toegestaan is.

Genome editing heeft ook een nieuwe impuls gegeven aan het onderzoeksgebied xeno-transplantatie: het transplanteren van dierlijke organen naar mensen. Genome editing biedt in dit onderzoeksgebied nieuwe mogelijkheden om een aantal technische problemen rondom immuunreacties en de mogelijke overdracht van dierziektes op te lossen. Deze ontwikkelingen bevinden zich nog in een vroege experimentele fase. Klinische of commerciële toepassingen lijken nog dusdanig ver weg dat hier geen termijn aan verbonden kan worden. Ook wordt gewerkt aan nieuwe methoden zoals het genereren van humane organen in dieren (chimeren) om deze vervolgens naar een patiënt te transplanteren. Het gebruiken van dieren voor de productie van organen ten behoeve van transplantatiedoelinden roept in beide gevallen naast technische ook morele vragen op. De klinische toepassing van xenotransplantatie is in Nederland verboden zolang de veiligheid van deze toepassingen niet voldoende gegarandeerd kan worden. Mochten deze toepassingen in het buitenland beschikbaar komen, en wordt het verbod in Nederland niet heroverwogen, dan valt medisch toerisme niet uit te sluiten.

Met genome editing kunnen ook gemakkelijk efficiënte gene drive systemen ontwikkeld worden. Met *gene drive* technieken wordt de overerving van bepaalde eigenschappen vergroot waardoor in principe alle nakomelingen de ingebrachte eigenschap hebben. *Gene drives* bieden in theorie mogelijkheden voor zogeheten *ecologische engineering* of populatiecontrole. Daarbij gaat het zowel om het bestrijden van infectieziekten, plagen en (invasieve) exoten als het herstellen of behouden van bijvoorbeeld bedreigde diersoorten. Deze techniek biedt in sommige gevallen wellicht voordelen ten opzichte van de bestaande praktijk als het gaat om efficiëntie en dierenwelzijn. Bijvoorbeeld als alternatief voor het bestrijden van invasieve exoten met gif of vallen. Aan de andere kant zijn er zorgen over de mogelijk negatieve, onvoorziene of onomkeerbare gevolgen op populatie- en ecosysteem niveau. Eventuele milieueffecten kunnen grensoverschrijdend zijn. Dit kan problematisch zijn bij de bestrijding van invasieve exoten, die in andere landen, zoals het land van herkomst, niet ongewenst zijn. De reikwijdte van nationaal beleid is hiermee beperkt en vraagt om internationale afstemming.

Genome editing biedt daarnaast (vooralsnog theoretische) mogelijkheden voor het herintroduceren van uitgestorven diersoorten en het herstellen of verbeteren van bedreigde diersoorten. Het terugbrengen van uitgestorven diersoorten door middel van deze technieken is een nichetoepassing in de vroege onderzoeksfase. Deze toepassingen zijn maatschappe-

lijk niet onomstreden en worden door sommigen gezien als een verkeerde prioritering van onderzoeksgelden. De omkeerbaarheid van het uitsterven van diersoorten zou daarnaast een negatief effect kunnen hebben op de (ervaren) urgentie van natuurbescherming.

Nieuwe toepassingen verschuiven inhoud maatschappelijk debat

Het genetisch wijzigen van dieren is niet nieuw, maar genome editing brengt toepassingen waar al lange tijd over gesproken wordt, sneller dichterbij. De discussies en vragen hierover zijn daardoor niet langer vrijblijvend of theoretisch, maar vragen om een standpunt en besluitvorming over toekomstige ontwikkelingen. Het gaat hierbij om vragen over de wenselijkheid en noodzakelijkheid van toepassingen bij dieren zoals ziekteresistentie en productieverhoging, maar ook om vragen over veranderend proefdiergebruik, (verdere) instrumentalisering van landbouwhuisdieren en dieren voor orgaandonatie (xenotransplantatie). Bovendien gaat genome editing verder dan toepassingen bij gedomesticeerde dieren, die voornamelijk in een gecontroleerde omgeving (laboratorium, productiefaciliteit) plaatsvinden. Er wordt gewerkt aan toepassingen om dierspopulaties in het milieu te beheersen of juist diersoorten te herintroduceren. Hiermee wordt niet alleen op cel of organismeniveau, maar ook op systeemniveau ingegrepen. Een andere invulling en eventuele uitbreiding van bestaande thema's en overwegingen rondom het gebruik van dieren komt hierbij aan de orde. Het gaat om thema's als telos, integriteit, natuurlijkheid, instrumentalisering, dierenwelzijn, en alternatieven voor de bestaande praktijk van bijvoorbeeld de veehouderij.

Reikwijdte nationale wetgeving dieren beperkt in internationale context

De wetten en regels die een rol spelen bij genome editing van dieren betreffen zowel specifieke regels ten aanzien van genetische modificatie als algemene regelgeving voor het gebruik van dieren voor verschillende toepassingsgebieden. De regelgeving in Nederland is in belangrijke mate Europees bepaald. Genetische modificatie is vergunningplichtig en moet in Europa beoordeeld worden op risico's voor mens en milieu. In hoeverre toepassingen van genome editing ook onder de regelgeving voor genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) (blijven) vallen, staat zowel in Europa als daarbuiten ter discussie. Het Europese Hof is gevraagd om de precieze werkingssfeer van de vrijstelling in de EU ggo-richtlijn 2001/18 van organismen gemodificeerd door mutagenese te verduidelijken, teneinde te kunnen bepalen of gerichte mutagenese technieken, zoals CRISPR-Cas, onder deze vrijstelling vallen. De vragen aan het Hof zijn gesteld naar aanleiding van gerichte mutagenese bij planten, maar vooralsnog is niet bekend of de uitspraak ook van toepassing zal zijn op andere organismen, zoals dieren. De uitspraak wordt in de loop van 2018 verwacht.

In Nederland zijn daarnaast diverse nationale wetten van toepassing op dieren. De Wet dieren geldt voor alle gehouden dieren en heeft een focus op diergezondheid en welzijn. De Wet op de dierproeven is van toepassing op alle gewervelde dieren en enkele ongewervelden. De focus van deze wetgeving is het faciliteren van belangrijk wetenschappelijk onderzoek en daarbij het ongerief voor proefdieren waar mogelijk te beperken of voorkomen. De

Wet natuurbescherming is gericht op zowel planten als dieren. Het doel van deze wet is het behouden, beschermen en versterken van de (wilde en gecultiveerde) natuur. In deze wet zijn onder meer lijsten opgenomen van bedreigde diersoorten en (invasieve) exoten. Naast harde wetten en regels zijn er de afgelopen tijd verschillende initiatieven opgestart om nadere afspraken te maken over de richting van bijvoorbeeld de (duurzame) veefokkerij.

Dialogo en overleg met (inter)nationale stakeholders noodzakelijk

De ontwikkelingen buiten Nederland gaan snel en verwacht wordt dat deze ook de Nederlandse grenzen zullen bereiken in de vorm van import van (geslachtscellen van) (proef)dieren en hun producten (voedsel, medicijnen en overige producten zoals wol en leer).

Over zowel het gebruik van dieren als de toepassing van genetische modificatie bestaan zeer uiteenlopende meningen en voorkeuren waarvan het onwaarschijnlijk is dat die tot een eenduidige visie gaan komen. Toch zullen er besluiten genomen moeten worden over het gebruik en de regulering van genome editing bij dieren.

De COGEM heeft zes thema's geïdentificeerd die inhoudelijk danwel procedureel van belang zijn voor de maatschappelijke dialoog over genome editing bij dieren:

1. **Snelheid:** De snelheid van de internationale ontwikkelingen ligt hoog en lijkt bestaande technische barrières voor de commerciële ontwikkeling van gg-dieren weg te nemen door de aard (efficiëntie, nauwkeurigheid) en de toegankelijkheid (eenvoudig, breed toepasbaar) van CRISPR-Cas.
2. **Handhaafbaarheid:** Detectie van genetische modificaties geëffectueerd met genome editing is theoretisch mogelijk, maar enkel als bekend is waar naar gezocht moet worden. Bij sommige toepassingen van genome editing is detectie echter niet mogelijk, omdat de modificatie bijvoorbeeld binnen de natuurlijke variatie van de soort valt.
3. **Complexiteit:** Milieu- en ecosysteemtoepassingen (bijvoorbeeld gene drives voor het bestrijden van infectieziekten of invasieve exoten) zijn waarschijnlijk niet geografisch beperkt, met andere woorden, de verspreiding van gene drive organismen houdt niet op bij landsgrenzen.
4. **Mobilisatiepotentieel:** De combinatie van genetische modificatie, dieren en ecosysteem toepassingen kan leiden tot het verheugen van maatschappelijke discussies.
5. **Natuurlijkheid:** De aard van de toepassingen maakt het begrip natuurlijkheid minder bruikbaar in een juridische en maatschappelijke context.
6. **Proportionaliteit:** Sommige nieuwe toepassingen bieden naast voordelen voor de mens ook relatieve voordelen wat betreft dierenwelzijn, terwijl andere toepassingen juist een verdergaande instrumentalisering van dieren faciliteren die nadelige fysieke gevolgen voor het dier kan hebben. Dit kan leiden tot een andere uitkomst van de afweging van risico's en voordelen dan voorheen.

De Nederlandse overheid streeft ernaar om (bio)technologie en het daarvoor gevoerde beleid zo goed mogelijk te laten aansluiten op maatschappelijke behoeftes en problemen door

middel van onder meer het betrekken van stakeholders. Dit doet zij onder meer door publieksonderzoek en het organiseren van bijeenkomsten en focusgroepen. De uitwerking van deze initiatieven brengt echter ook uitdagingen met zich mee, omdat deze bijeenkomsten zelden succesvol lijken te zijn waarbij voor- en tegenstanders niet nader tot elkaar komen.

De COGEM constateert dat de problematiek rond stakeholderbetrokkenheid mogelijk niet ligt aan de beschikbare methoden, maar aan het traject dat voorafgaat aan de keuze voor een bepaalde aanpak. De eerste fase van probleemstructurering en formulering zijn bepalend voor een succesvolle en productieve betrokkenheid van stakeholders. Er blijkt regelmatig onduidelijkheid over het doel van stakeholderparticipatie (inhoud- of procesgericht), de feitelijke inhoud, de vorm (participatie, consultatie of inspraak), en over wie de stakeholders zijn. Transparantie over het doel, het proces en het belang van wederkerigheid tussen de betrokkenen zijn daarom essentiële randvoorwaarden. In deze signalering doet de COGEM handreikingen over hoe het proces van stakeholderbetrokkenheid beter georganiseerd kan worden.

Conclusie en signalering

- De Europese en Nederlandse regelgeving zijn niet bestand tegen de internationale ontwikkelingen rondom genome editing bij dieren, omdat sommige toepassingen dusdanig subtiel zijn dat ze niet of nauwelijks te onderscheiden zijn van mutaties die van nature optreden. Door internationale handel en verschillen in regelgeving lijkt het onvermijdelijk dat toepassingen van genome editing bij dieren, bedoeld of onbedoeld, ook in Europa en daarmee ook Nederland terecht komen. Dit brengt zowel beleidsmatige (handhaving regelgeving en detectie) als maatschappelijke (keuzevrijheid) uitdagingen met zich mee.
- Sommige nieuwe toepassingen kunnen naast voordelen voor de mens ook relatieve voordelen of mogelijke nadelen voor het dier bieden. Dit kan leiden tot een andere uitkomst van de afweging van risico's, voordelen en ethische aspecten dan voorheen.
- De snelheid van de technologische ontwikkelingen vraagt om een tijdige positiebepaling van overheid en betrokken stakeholders op mogelijke import van genome edited dieren en hun producten. Het is daarbij van belang in overleg te treden met wetenschappers, fokkers, bedrijfsleven en maatschappelijke stakeholders. In deze signalering doet de COGEM handreikingen over hoe dit proces georganiseerd kan worden. Als Nederland de huidige verplichte ethische toetsing voor biotechnologie bij dieren voor niet medisch wetenschappelijke toepassingen in stand wil houden, is het daarnaast van belang om het doel en de taakstelling van een hierbij betrokken commissie opnieuw onder de loep te nemen in het licht van de ontwikkelingen rondom genome editing bij dieren en de daaraan gekoppelde verschuivingen in het maatschappelijke debat.
- Milieu- en ecosysteemtoepassingen (bijvoorbeeld gene drives voor het bestrijden van infectieziekten of invasieve exoten) zijn waarschijnlijk niet geografisch beperkt. Dit betekent dat eventuele Europese en Nederlandse beleidsmaatregelen beperkt effectief zijn en internationale samenwerking en overleg nodig zal zijn wanneer toepassingen in omringende landen aan de orde komen.

Inhoud

Samenvatting	5
1. Introductie	13
1.1 Genome editing geeft impuls aan ontwikkeling gg-dieren	13
1.2 Nederland: wel onderzoek, geen commerciële toepassingen	16
1.3 Internationale ontwikkelingen: gg-dieren in opmars	17
1.4 Vraagstukken genome editing bij dieren	17
2. Algemene maatschappelijke overwegingen gebruik dieren	19
2.1 Telos: intrinsieke en extrinsieke waarde van het dier	20
2.2 Integriteit	21
2.3 Natuurlijkheid	21
2.4 Instrumentalisering	22
2.5 Dierenwelzijn	22
2.6 Bestaande praktijk en alternatieven	23
2.7 Deelconclusies	24
3. Mogelijkheden en toepassingen genome editing	25
3.1 Huisdieren	30
3.1.1 Productieverhoging	31
3.1.2 Ziekteresistentie	34
3.1.3 Productkwaliteit	36
3.1.4 Overige toepassingen	37
3.2 Proefdieren	39
3.2.1 Ziektemodellen voor complexe aandoeningen	39
3.2.2 Snelheid ontwikkeling ziektemodellen	40
3.2.3 Verschuiving soorten gebruikte proefdieren	40
3.3 Xenotransplantatie en chimere dieren voor orgaantransplantatie	43
3.3.1 Xenotransplantatie	43
3.3.2 Chimere dieren voor orgaan- of weefseltransplantaties	44
3.4 Ecological engineering: populatiecontrole	46
3.4.1 Bestrijding infectieziekten	46
3.4.2 Bestrijding invasieve soorten	51
3.5 Ecological engineering: bedreigde en uitgestorven diersoorten	52
3.5.1 Herstel bedreigde diersoorten	52
3.5.2 De-extinctie	52
3.6 Deelconclusies	55

4. Wet- en regelgeving van (genetisch gemodificeerde) dieren	57
4.1 EU wet- en regelgeving	57
4.1.1 Genetisch gemodificeerde organismen (ggo's)	57
4.1.2 Fokken, houden en handelen dieren en dierlijke producten	59
4.1.3 Soft law en andere initiatieven (EU)	60
4.2 Nederlandse wet- en regelgeving	60
4.2.1 Besluit GGO	60
4.2.2 Wet Dieren (Wd)	60
4.2.3 Wet op de dierproeven (Wod)	62
4.2.4 Wet op bijzondere medische verrichtingen	62
4.2.5 Wet Natuurbescherming	64
4.2.6 Soft law en andere initiatieven (Nederland)	64
4.3 Deelconclusies	65
5. Dialoog en governance: waarom en waarover?	67
5.1 Snelheid: dialoog over gg-dieren niet langer vrijblijvend	67
5.2 Handhaafbaarheid: regelgeving niet bestand tegen internationale ontwikkelingen	68
5.3 Complexiteit: vraagt om transdisciplinaire kennisontwikkeling	69
5.4 Mobilisatiepotentieel: ecologische toepassingen zetten discussie op scherp	69
5.5 Natuurlijkheid: bestaande terminologie beperkt bruikbaar	70
5.6 Proportionaliteit: verschuiving in maatschappelijke waardering	71
5.7 Deelconclusies	72
6. Dialoog en Governance: hoe dan?	74
6.1 Stakeholderbetrokkenheid beperkt succesvol	74
6.2 Aan de beschikbare methodes ligt het niet	74
6.3 Probleemstructurering essentieel startpunt	75
6.3.1 Fase 1: Probleemstructurering	76
6.3.2 Fase 2: Identificatie en evaluatie oplossingsrichtingen	77
6.4 Randvoorwaarden	77
6.4.1 Transparantie doel	77
6.4.2 Transparantie proces	78
6.4.3 Principe van wederkerigheid	78
6.5 (Maatschappelijke) dialoog; met wie?	78
6.5.1 Maatschappij: consument, patiënt en burger	79
6.5.2 Technologie: ontwikkelaars en (directe) gebruikers	80
6.5.3 Beleid: professionele experts en uitvoeringsorganisaties	81
6.6 Deelconclusies	82
7. Conclusie en signalering	83
7.1 Nationale regelgeving niet bestand tegen internationale ontwikkelingen	83
7.2 Thema's maatschappelijk debat hetzelfde, de inhoud niet	84
7.3 Overleg en dialoog met stakeholders	84

Bijlage A: Indicatie maatschappelijke dialoog: wie, wat, waar, waarom en hoe	86
Bijlage B: Report on the symposium ‘Gene editing in animals’	88
Referenties	100

1. Introductie

In deze signalering^a worden de consequenties en vraagstukken van de toepassingsmogelijkheden van *genome editing* bij dieren voor de Nederlandse overheid, onderzoekers, beroepsgroepen en samenleving in kaart gebracht.

1.1 Genome editing geeft impuls aan ontwikkeling gg-dieren

De introductie van genome editing technieken (zoals ZFN, TALENs en CRISPR-Cas^b) heeft de afgelopen jaren een enorme impuls gegeven aan het biotechnologisch onderzoek.¹⁻⁴ Dit geldt voor alle gebieden waar biotechnologische technieken en genetisch onderzoek worden toegepast, zoals de agrarische, industriële en medische sector. Genome editing is een vorm van genetische modificatie waarmee zeer efficiënt, nauwkeurig en gemakkelijk kleine en grote wijzigingen kunnen worden aangebracht in het DNA van elk type cel en elk organisme (micro-organismen, planten, dieren en mensen) (**zie kader genome editing en genetische modificatie**). Met name de zogeheten CRISPR-Cas technologie heeft de afgelopen jaren in hoog tempo verbeteringen gebracht ten aanzien van efficiëntie en nauwkeurigheid van genetische modificatie.

Genome editing en genetische modificatie

Er wordt gesproken van genetische modificatie wanneer het DNA van een organisme wordt aangepast op een manier die van nature door voortplanting of natuurlijke recombinatie niet mogelijk is. Hierbij moet een onderscheid gemaakt worden tussen het inbouwen van 'nieuwe' genen (inserties) of het aanbrengen van kleine veranderingen (mutaties en deleties) in het erfelijke materiaal van een organisme (**zie figuur 1**).

In de loop der jaren zijn verschillende technieken ontwikkeld om mutaties in organismen teweeg te brengen (**zie figuur 2**).

Bij **klassieke mutagenese** worden weefsels of cellen blootgesteld aan chemische agentia of straling om mutaties te induceren. Mutagenese door straling wordt sinds de jaren 1920 toegepast. Later zijn chemische mutagenen, zoals ethylmethaan-sulfonaat, geïntroduceerd, omdat deze makkelijker waren in het gebruik en minder geavanceerde apparatuur behoeften.⁵ De mutaties die door klassieke mutagenese tot stand komen, zijn willekeurig. Op basis van de lange geschiedenis van veilig gebruik zijn de producten van mutagenese destijds vrijgesteld van de ggo-regelgeving.

a. Deze signalering gaat over de toepassing van genome editing bij dieren. Bij de toepassing van deze technieken worden genetische wijzigingen aangebracht in de geslachtscellen (kiembaancellen) van dieren, zodat de wijzigingen ook aan volgende generaties worden doorgegeven. Deze signalering gaat niet in op het wijzigen van somatische- of lichaamscellen (gentherapie bij mens of dier), kiembaanmodificatietoepassingen bij mensen, of toepassingen van genome editing bij planten.

b. Zinc Finger Nuclease (ZFN), Transcription Activator Like Effector Nuclease (TALEN), Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated protein 9 (CRISPR/Cas9), zie hoofdstuk 3.

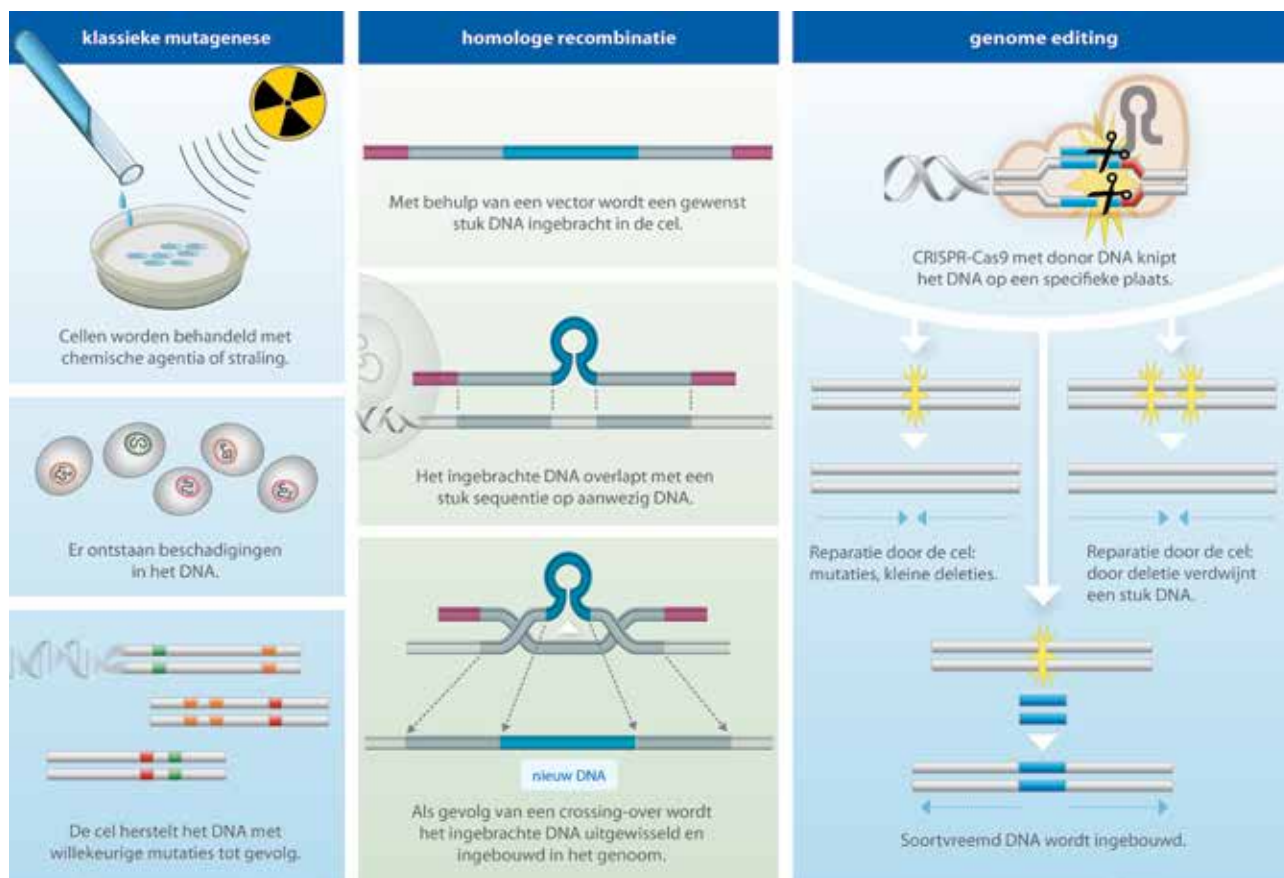


Figuur 1: Er kunnen drie soorten genetische wijzigingen in het DNA worden onderscheiden: mutaties, deleties en inserties

Er zijn ook verschillende methoden ontwikkeld om DNA sequenties bij cellen in te brengen, bijvoorbeeld via een injectie, via partikels (macro-, of nanopartikels) of met behulp van virussen (zie figuur 3).

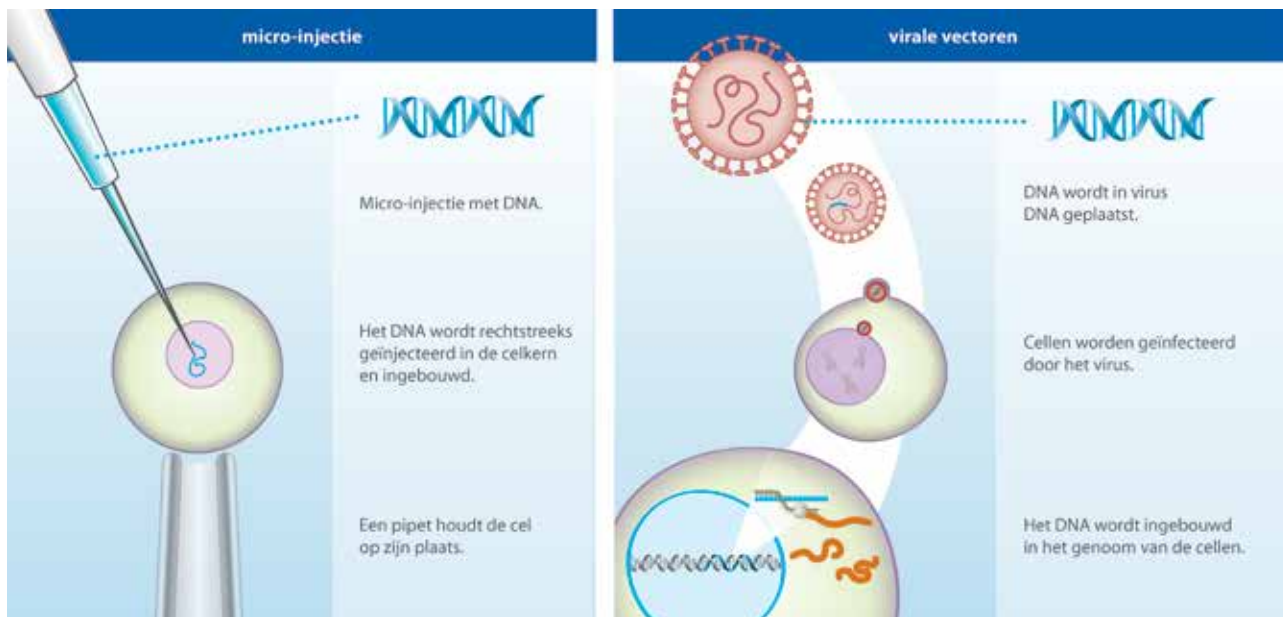
In 1981 werd de eerste genetisch gemodificeerde (gg-)muis gemaakt m.b.v. micro-injectie van DNA in de celkern.⁶ In 1987 is een techniek ontwikkeld waarbij macropartikels (zoals gouddeeltjes) bedekt met DNA onder hoge druk en met zeer hoge snelheid in cellen geschoten worden. Deze techniek, ook wel **particle bombardment** genoemd, werd vooral gebruikt voor transformatie van planten, maar kent ook enkele toepassingen bij dieren. Tegenwoordig wordt de techniek nauwelijks meer gebruikt. Bij genetische modificatie door middel van **virusvectoren** infecteren deze de dierlijke gastheercellen en integreren (een deel van) hun genoom in het genoom van de gastheercel waardoor het gewenste effect langer tot uiting komt.

Het gericht aanbrengen van veranderingen in genetisch materiaal is in de afgelopen jaren mogelijk geworden door de ontwikkeling van nieuwe technieken. Door het gebruik van zogenaamde nucleases (enzymen die RNA of DNA kunnen knippen) kunnen op specifieke locaties wijzigingen aangebracht worden in het gastheer DNA. Onder deze **genome editing** technieken vallen de zogenaamde 'meganucleases', ZFNs en TALENs. Om gerichte DNA aanpassingen te maken, moeten de nucleases specifiek binden aan de gewenste DNA sequentie, als een sleutel op een slot. Dit maakt de productie van deze gerichte nucleases zeer ingewikkeld en tijdsintensief. Rond 2012 was er opnieuw een doorbraak in de genome editing technieken. Toen werd beschreven dat het CRISPR-Cas9 een specifieke sequentie in het DNA kan knippen. Omdat het 'gids RNA' van het CRISPR-Cas complex dat de specifieke locatie herkent op het te knippen DNA, eenvoudig is aan te passen aan de gewenste target DNA sequentie, is deze techniek zeer flexibel en gemakkelijker toepasbaar dan de andere nuclease technieken.



Figuur 2: Verschillende modificatietechnieken.

De COGEM heeft in het verleden verschillende signaleringen, rapporten en adviezen uitgebracht over genetische modificatie van dieren.^{3,7,8-13} Het genetisch wijzigen van dieren is niet nieuw, maar genome editing brengt toepassingen, waar al lange tijd over gesproken wordt, sneller dichterbij. De discussies hierover zijn daardoor niet langer vrijblijvend maar vragen om een standpunt en besluitvorming over toekomstige ontwikkelingen. Het gaat om vragen over de wenselijkheid en noodzakelijkheid van toepassingen bij dieren zoals ziekteresistentie en productieverhoging, maar ook om vragen over veranderend proefdiergebruik, (verdere) instrumentalisering van landbouwhuisdieren en dieren voor orgaan-donatie (xenotransplantatie). Bovendien gaat genome editing verder dan toepassingen bij gedomesticeerde dieren die voornamelijk in een gecontroleerde omgeving (laboratorium, productiefaciliteit) plaatsvinden. Er wordt gewerkt aan toepassingen om ook in het milieu door populatieveranderingen op ecosysteemniveau in te grijpen.



Figuur 3: Methoden om cellen (eicellen, embryonale stamcellen of somatische cellen) te modificeren om hiermee een gg-dier te genereren.

1.2 Nederland: wel onderzoek, geen commerciële toepassingen

Nederland kent een strenge wet- en regelgeving voor biotechnologie^c bij dieren (**zie hoofdstuk 4**). Commerciële toepassingen zijn hierdoor in de praktijk nagenoeg uitgesloten. Biotechnologie bij dieren vindt in Nederland beperkt plaats in de context van (medisch) wetenschappelijk onderzoek. Daarbij gaat het voornamelijk om muizen en in mindere mate om ratten, zebrafisshen en konijnen. Voor enkele medicijnen die afkomstig zijn van gg-dieren is een markttoelating goedgekeurd in Europa; deze medicijnen mogen daarmee geïmporteerd worden uit het buitenland.^{14,15}

Het kloneren van dieren betreft geen genetische modificatie, maar valt wel onder biotechnologie bij dieren. Het is bekend dat er gekloonde dieren in Nederland rondlopen, zoals de hond Pipo en een aantal sportpaarden.^{16,17} Ook is het mogelijk en wettelijk toegestaan dat via import dierlijke producten (zoals vlees) van (nakomelingen van) gekloonde dieren in Nederland verkocht worden. In verschillende landen in Noord- en Zuid Amerika en ook in China wordt het klonen van waardevolle vader- en moederdieren steeds

c. Biotechnologie bij dieren is breder dan genetische modificatie. Hieronder valt bijvoorbeeld ook het kloneren van dieren, waarbij een genetische kopie van een dier wordt gemaakt.

meer gangbare praktijk.^{18,19,20,21} Detectie van nakomelingen van gekloneerde dieren is nu nog onmogelijk.

1.3 Internationale ontwikkelingen: gg-dieren in opmars

Biotechnologie bij dieren wordt in het buitenland meer toegepast, zowel voor onderzoek als enkele commerciële toepassingen. In de Verenigde Staten (VS) en Canada is, na een beoordelingstraject van bijna 20 jaar, een genetisch gemodificeerde zalm toegelaten^d tot de markt voor voedseldoeleinden.^{22,23} Zonder vergunning voor markttoelating (import) in Europa zal deze gg-zalm echter niet in Nederland verkocht worden.

In de moderne biotechnologie worden steeds nieuwe technieken uitgevonden. Genome editing, en CRISPR-Cas in het bijzonder, is daar het laatste voorbeeld van. De introductie van CRISPR-Cas lijkt bestaande technische barrières voor de ontwikkeling van gg-dieren weg te nemen door:

- De aard van de techniek (efficiëntie, nauwkeurigheid)
- De toegankelijkheid van de techniek (eenvoudig, breed toepasbaar)
- De snelheid waarmee de techniek is opgepakt in het werkveld (grootschalig, wereldwijd)

De ontwikkelingen rondom genome editing bij dieren vinden voornamelijk plaats buiten Nederland en Europa. Gezien het internationale karakter van wetenschappelijk onderzoek, fokkerij en handel in geslachtscellen (zaadcellen, eicellen en embryo's), dieren en dierlijke producten, is het waarschijnlijk dat Nederland en Europa hier hoe dan ook mee te maken krijgen.

1.4 Vraagstukken genome editing bij dieren

In 2017 heeft de COGEM een internationaal symposium georganiseerd om de ontwikkelingen en gevolgen van genome editing bij dieren te inventariseren (zie **bijlage A**). Op basis van de uitkomsten van dit symposium, de expertise van de COGEM leden en literatuuronderzoek is deze signalering tot stand gekomen. In dit rapport worden de mogelijke consequenties van de ontwikkelingen van genome editing bij dieren in kaart gebracht.

De maatschappelijke en ethische discussies over de relatie tussen mens en dier zijn niet nieuw en ook niet specifiek voor biotechnologie of genetische modificatie van dieren. Dieren spelen op allerlei manieren een rol in ons leven; als gezelschapsdier, voor levensonder-

d. Een gg-zalm heeft in 2015 een markttoelating gekregen in de VS, maar wordt effectief niet geproduceerd of gegeten in dit land vanwege aanvullende eisen. Totdat officiële richtlijnen zijn vastgesteld met betrekking tot etikettering, geldt een importverbod voor de zalm, de eitjes van de zalm en voedsel waarin de zalm is verwerkt. De gg-zalm wordt wel in Canada geproduceerd en gegeten, waar eveneens een markttoelating is afgegeven.

houd (veehouderij), als voedsel of leverancier van andere producten (leer, wol, medicijnen), functioneel (bestuiving door insecten in de fruitteelt, honden als gids voor blinden), als vermaak (dierentuin, kinderboerderij, circus), maar ook minder zichtbaar als bijvoorbeeld proefdier in onderzoek. In discussies over biotechnologie bij dieren lopen specifieke en algemene vraagstukken vaak door elkaar. In **hoofdstuk 2** wordt daarom eerst een overzicht geschetst van de algemene maatschappelijke vraagstukken die een rol spelen in de discussie over dieren.

Vervolgens wordt de invloed van genome editing technieken op de ontwikkeling van gemoedificeerde dieren geïnventariseerd in **hoofdstuk 3**. De focus ligt hierbij op genome editing, ofwel kiembaanmodificatie bij dieren waarbij het dier de genetische wijzigingen doorgeeft aan het nageslacht. De opkomst van genome editing kan de bestaande internationale verschillen in regelgeving meer expliciet maken. In **hoofdstuk 4** worden de bestaande juridische kaders voor toepassingen van genome editing bij dieren in kaart gebracht met als achterliggende vraag of en waar er door de nieuwe ontwikkelingen eventuele knelpunten kunnen ontstaan.

Na het inventariseren van de technisch wetenschappelijke ontwikkelingen en juridische kaders wordt in **hoofdstuk 5** besproken welke invloed ontwikkelingen rondom genome editing bij dieren kan hebben op de aard van de maatschappelijke dialoog over gemoedificeerde dieren. Tenslotte wordt in **hoofdstuk 6** verkend hoe en door wie een (maatschappelijke) dialoog georganiseerd kan worden over genome editing bij dieren om veiligheid, innovatie, vooruitgang op het gebied van de geneeskunde en dierenwelzijn en maatschappelijk draagvlak te waarborgen.

2. Algemene maatschappelijke overwegingen gebruik dieren

Er is een aantal overkoepelende thema's en termen die een rol spelen in discussies over de relatie tussen mens en dier en het gebruik van dieren ten behoeve van de mens. De discussie over genome editing van dieren brengt onherroepelijk ook algemene vragen met zich mee die gaan over de context of het systeem waarbinnen dieren op dit moment gehouden worden. Deze signalering gaat niet inhoudelijk in op de aanvaardbaarheid of wenselijkheid van bestaande systemen voor bijvoorbeeld voedselproductie of het gebruik van proefdieren. Vanwege de verwevenheid van de argumenten in deze discussies, worden de algemene thema's en termen hier alleen benoemd en zal ernaar verwezen worden in deze signalering wanneer relevant.

De context waarbinnen dieren worden gebruikt varieert en kan worden omschreven als het geheel van fysieke, sociale en culturele omstandigheden waarbinnen mensen intentioneel met dieren omgaan. De relatie tussen mens en dier verschilt niet alleen per context, maar kan ook voor hetzelfde dier in een andere context verschillen.²⁴ Deze complexe relatie is vaak niet strikt diersoort- of toepassing-gerelateerd maar beide. Dat betekent dat het gebruik van hetzelfde dier voor een andere toepassing juist wel of niet aanvaardbaar is of weerstand kan oproepen. Zo houden we bijvoorbeeld muizen en ratten als huisdier, gebruiken we ze voor onderzoek en bestrijden we ze wanneer ze een plaag vormen. We houden honden als gezelschapsdier, als hulp (blindengeleidehond), bescherming (waak- en politiehonden), proefdier (toxicologisch en farmaceutisch onderzoek), lastdier (sledehonden) en in Azië is het niet ongebruikelijk dat ze als voedsel dienen. Ook kan het gebruik van dieren binnen dezelfde context verschillen, zo verschilt de veehouderij in verschillende landen en culturen en worden dieren in de conventionele veehouderij anders gehouden dan in de biologische veehouderij, elk met hun eigen kenmerken. Op nationaal, cultureel en individueel niveau denken mensen zeer verschillend over de rol van dieren en wat men aanvaardbaar of wenselijk vindt. Daarbij kunnen drie kernvragen worden geïdentificeerd: 1) mogen wij dieren houden 2) voor welke doeleinden mogen wij dieren houden en 3) op welke wijze mogen wij dieren houden?^e

Hoewel er op individueel niveau verschillende meningen bestaan over de wenselijkheid en aanvaardbaarheid van het gebruik van dieren, wordt de wet- en regelgeving globaal geacht het draagvlak binnen de samenleving ten aanzien van het gebruik van dieren te reflecteren. Op basis hiervan kan worden geconcludeerd dat het houden van dieren als aanvaardbaar gezien wordt. De wet- en regelgeving stelt wel minimumeisen aan de

e. Zie ook afwegingskader Raad voor Dieraangelegenheden (2010). Agenda voor het dierbeleid. Morele vraagstukken en speerpunten voor het dierbeleid in Nederland.

doeleinden en wijze waarop dieren gehouden mogen worden. Deze regels verschillen per diersoort en per doeleinde. Zo zijn er andere regels voor proefdieren dan voor landbouwhuisdieren en weer andere regels voor gezelschapsdieren. De wetgeving rondom dieren is daarnaast niet statisch en volgt veranderende maatschappelijke opvattingen. Voorbeelden hiervan zijn het Nederlandse verbod op wilde dieren in circussen^f, dat sinds 2015 van kracht is en het verbod op de pelsdierenhouderij voor bontproductie^g, dat in 2013 in werking is getreden.

Voor het gebruik van dieren en dierlijke producten geldt in Nederland de kaderwet dieren (Wd)^h, waarin uiteenlopende wetgeving over dierenwelzijn en dierengezondheid is opgenomen. Het uitgangspunt van de wet is dat “de intrinsieke waarde van dieren, zijnde wezens met gevoel, wordt erkend en dat inbreuk op de integriteit of het welzijn van dieren, verder dan redelijkerwijs noodzakelijk, moet worden voorkomen”. Integriteit en dierenwelzijn, maar ook natuurlijkheid en instrumentalisering, zijn kernbegrippen in discussies over het gebruik van dieren. Deze en enkele andere begrippen worden in dit hoofdstuk nader toegelicht.

2.1 Telos: intrinsieke en extrinsieke waarde van het dier

Het van oorsprong Griekse begrip telos (τέλος) staat voor doel of bedoeling en wordt gebruikt in de bio-ethiek. Veelal verwijst dit naar het soortelijke doel van een organisme (dier of plant) om z'n productiecycclus te voltooien en zijn ecosysteemdiensten te vervullen. Maar ook een niche, biotoop of ecosysteem kan een eigen telos worden toegeschreven. Een organisme kan zelfs meerdere teloi hebben. Een dier kan zowel als organisme een telos hebben als een door de mens opgelegde bestemming of doel.

Deze teloi kunnen gekoppeld worden aan de intrinsieke en extrinsieke waarde van dieren. De telos van het dier is gebaseerd op de erkenning dat planten en dieren bepaalde soort-specifieke ‘doelen’ hebben.ⁱ Zo kunnen dieren een waarde op zichzelf hebben als autonoom organisme binnen een ecosysteem; een intrinsieke waarde die het dier als zodanig verdient vanwege het feit dat het er is. Een ander aspect, zoals integriteit verwijst naar de aard, heelheid, volledigheid van een organisme. Daarnaast kunnen dieren en ook planten een door de mens opgelegd doel of telos hebben, bijvoorbeeld voor de productie van voedsel. Deze telos vertegenwoordigt de extrinsieke waarde van dieren, de waarde van het dier als doel voor de mens.

De twee vormen van telos, intrinsiek en extrinsiek, kunnen tegenover elkaar staan of in strijd met elkaar zijn; hoe meer de mens een dier domesticeert, hoe meer het diereigen

f. Besluit van 28 augustus 2015, houdende wijziging van het Besluit houders van dieren in verband met het verbod op deelname met zoogdieren behorende tot wilde diersoorten aan circussen en andere optredens en op vervoer van die dieren ten behoeve daarvan.

g. Wet van 4 januari 2013, houdende een verbod op de pelsdierhouderij (Wet verbod pelsdierhouderij).

h. De Wet dieren vervangt sinds 2013 de Gezondheids- en Welzijnswet voor Dieren (Gwwd) en een aantal andere wetten met regels voor het houden van dieren.

i. Zie RDA 2015 indeling gedragscategorieën voor soortelijke gedrag en mentale gezondheid.

telos wordt opgeofferd om zijn door de mens opgelegde telos te verwezenlijken.²⁵ Maar ze kunnen ook samen bestaan, in het beste geval zelfs in harmonie zijn. Welke balans tussen beide teloi gewenst of aanvaardbaar is, hangt af van de houding die mensen zien van zichzelf ten opzichte van de natuur.^j

Uitersten zijn te illustreren met een voorbeeld: het gebruik van bijen en hommels voor bestuiving in de fruitteelt kan worden gezien als het verwezenlijken van beide teloi; het is wat deze insecten van nature ook doen. Het gebruik van varkens voor xenotransplantatie, het genereren van organen voor humane transplantatie, zal waarschijnlijk worden gezien als een verregaande opoffering van de dierlijke telos ten behoeve van het door de mens opgelegde doel. Tegelijkertijd kan men echter van mening zijn dat het doel, orgaantransplantatie voor ernstig zieke mensen, deze opoffering van het dierlijke telos rechtvaardigt. De mate van aantasting van de integriteit van dieren hangt samen met menselijk handelen en de intentie waarmee dat menselijk handelen plaatsvindt.²⁶

2.2 Integriteit

Met integriteit van dieren wordt bedoeld dat dieren een waarde op zichzelf hebben, en niet alleen waardevol zijn als middel tot een doel, maar ook in of omwille van zichzelf. Integriteit verwijst naar de heelheid en gaafheid van een dier en is gerelateerd aan het soortspecifiek en zelfstandig (zonder hulp van de mens) kunnen functioneren (de mate waarin het dier zijn telos kan verwezenlijken).²⁷ Met eigensoortelijkheid kunnen zowel de geno- als de fenotypische eigenschappen en het gedrag van dieren worden bedoeld.

Voor de ene mens is integriteit een absolute norm en is elke vorm van fysieke of genetische modificatie een aantasting van de integriteit. Voor de ander telt ook het effect van de modificatie. De productie van een soortvreemd eiwit in de melk van een dier kan bijvoorbeeld worden gezien als een minder bezwaarlijke aantasting van de integriteit dan een introductie van soortvreemd DNA dat het fysieke uiterlijk of gedrag van een dier verandert. Met andere woorden; wanneer een genotypische wijziging ook in de fysieke (fenotypische) kenmerken van dieren tot uiting komt, wordt de aantasting van de eigensoortelijkheid vaak als ernstiger ervaren. Het couperen van de staart bij honden om esthetische redenen wordt veelal gezien als een inbreuk op de integriteit. Wanneer de staart echter om medische redenen wordt verwijderd, is dit niet of minder het geval. Ook is het begrip integriteit en de aantasting daarvan specifiek gekoppeld aan menselijk handelen ten opzichte van het dier.

2.3 Natuurlijkheid

Naarmate een dier meer in staat is om zijn eigen telos te verwezenlijken, wordt dit doorgaans geassocieerd met een meer 'natuurlijke' situatie. Wanneer de nadruk meer komt te

j. In de milieufilosofie worden verschillende mens-natuur relaties onderscheiden, zoals de heerser (mens centraal, natuur instrumenteel), de rentmeester (mens centraal, natuur in bruikleen, verantwoordelijkheid), de partner (natuur en milieu centraal, samenwerking) en de participant (natuur centraal, mens is onderdeel van het geheel).

liggen op de extrinsieke waarde van het dier, het doel of nut van het dier voor de mens, wordt dit eerder gekoppeld aan een minder ‘natuurlijke’ situatie. Natuurlijkheid is een lastige maar veel gebruikte term in discussies over biotechnologie. Lastig, omdat de term enerzijds een dogma is dat als vanzelfsprekend in discussies wordt aangenomen, terwijl mensen tegelijkertijd vaak zeer uiteenlopende invullingen aan de term geven. Wat natuurlijk is voor de een, is onnatuurlijk voor de ander. Bovendien is de term niet waardevrij; ‘natuurlijk’ wordt vaak geassocieerd met ‘goed’ en ‘puur’ terwijl onnatuurlijk, synthetisch of kunstmatig eerder een negatieve associatie heeft.

2.4 Instrumentalisering

Het gebruik van dieren voor een door de mens opgelegde bestemming of doel wordt instrumentalisering genoemd. Instrumentalisering hoeft niet per definitie dieronvriendelijk te zijn of het welzijn van dieren aan te tasten, dit hangt samen met het eerdere punt over de mate waarin het dier in staat is en blijft om zijn eigen telos te verwezenlijken. Sommigen zijn van mening dat elk instrumenteel gebruik van dieren de integriteit aantast en daarmee onacceptabel is, terwijl voor anderen het gebruik van dieren om bepaalde functies te vervullen, al dan niet onder voorwaarden, aanvaardbaar is. Vanuit dit perspectief geldt meestal dat wanneer men een doel belangrijker of meer nastrevenswaardig vindt, de kosten (nadelen voor het dier) hoger mogen zijn.

De Nederlandse wet- en regelgeving heeft als uitgangspunt dat dieren gebruikt mogen worden voor bepaalde doeleinden, maar niet enkel instrumentele waarde hebben. Proefdieren mogen daarom niet zonder goede reden als middel gebruikt worden; voor dieren in het algemeen gelden – context afhankelijk – minimumeisen ten aanzien van dierenwelzijn. Uit de Wet dieren (par. 4 biotechnologie) kan bijvoorbeeld worden afgeleid dat biomedisch onderzoek (vrijgesteld) als meer nastrevenswaardig wordt gezien dan bijvoorbeeld het aanpassen van dieren voor sport en vermaak (verboden).⁸

2.5 Dierenwelzijn

Onder dierenwelzijn wordt globaal het fysieke en gevoelsmatige welzijn van dieren verstaan, dat tot uiting komt in gezondheid en gedrag. Dierenwelzijn is echter geen vastomlijnd begrip. Er bestaat al lange tijd discussie (zowel filosofisch als operationeel) onder wetenschappers en ethici over de vraag wat dierenwelzijn is, en welke methoden kunnen worden gebruikt om dierenwelzijn te meten.²⁸ Om dierenwelzijn te toetsen, wordt in de regel verwezen naar vijf vrijheden:

1. dieren zijn vrij van honger en dorst;
2. dieren zijn vrij van ongemak;
3. dieren zijn vrij van pijn, verwonding en ziekte;
4. dieren zijn vrij van angst en stress;
5. dieren zijn vrij om normaal gedrag te vertonen.

De 'Vijf vrijheden' zijn gebaseerd op de bevindingen van het Brambell Committee dat in 1965 de opdracht van de Britse regering kreeg om de voorwaarden vast te stellen waaronder dieren gehouden zouden mogen worden.²⁹ Deze voorwaarden gelden niet voor niet-gehouden dieren, zoals (wilde) dieren in natuurgebieden. Deze uitgangspunten vormden in 1976 tevens de basis voor de Europese Conventie voor de bescherming van dieren voor veehouderij doeleinden, die uiteindelijk resulteerde in verschillende Europese richtlijnen en verordeningen.^k

De uitgangspunten voor dierenwelzijn zijn deels omgezet en vastgelegd in wettelijke (minimum) vereisten voor het houden van dieren (zie **hoofdstuk 4**). De uitwerking in de praktijk kan echter verschillen, bijvoorbeeld tussen de biologische en conventionele veehouderij. De interpretatie van termen zoals 'ongemak', 'stress' en 'normaal gedrag', is context-, cultuur- en persoonsafhankelijk.

2.6 Bestaande praktijk en alternatieven

In discussies over het gebruik van dieren speelt de bestaande praktijk een belangrijke rol. Het is niet altijd eenduidig of expliciet wat de bestaande praktijk precies inhoudt of welke praktijk als uitgangspunt voor een afweging of beoordelingskader genomen moet worden. Bij nieuwe toepassingen met dieren in de veehouderij speelt bijvoorbeeld de vraag of de conventionele veehouderij het uitgangspunt moet zijn of de biologische veehouderij. Gaan we uit van een maatschappij waar de dagelijkse consumptie van dierlijke producten gangbaar is of moeten we overwegend of volledig vegetarisch worden?

De bestaande praktijk wordt vaak als vanzelfsprekend aangenomen (inclusief problemen, risico's en voor- en nadelen), terwijl nieuwe ontwikkelingen met een kritische blik tegemoet getreden worden. Niet idereen is het echter eens met de bestaande praktijk. Zij zien nieuwe technieken die deze praktijk in stand houden als problematisch. De ontwikkeling wordt gezien als een technologische oplossing (*technological fix*), terwijl het werkelijke probleem onderliggend is (bestaande praktijk).

De wet- en regelgeving bepaalt juridisch wat de grenzen zijn aan het gebruik van dieren in de staande praktijk, maar hoe men individueel denkt over de wenselijkheid van deze praktijk kan variëren. Dit geldt ook voor alternatieven voor de bestaande praktijk; wat voor de één een goed alternatief is, is voor een ander onbespreekbaar. Op individueel niveau kan hier uiting aan worden gegeven door middel van keuzevrijheid ten aanzien van consumptiegedrag en gebruik van diensten. De discussie over de aanvaardbaarheid van de bestaande praktijk vormt een terugkerend thema wanneer nieuwe toepassingen of mogelijkheden aan de horizon verschijnen en is een inherent onderdeel van de afweging en acceptatie van nieuwe ontwikkelingen.

k. Europese Overeenkomst inzake de bescherming van landbouwhuisdieren, Straatsburg, 10-03-1976.

2.7 Deelconclusies

- Begrippen als telos, integriteit en dierenwelzijn, maar ook natuurlijkheid en instrumentalisering, evenals de rol van de bestaande praktijk en alternatieven, zijn kernthema's in de discussie over het gebruik van dieren.
- Op nationaal, cultureel en individueel niveau denken mensen zeer verschillend over de rol van dieren en welke toepassingen men aanvaardbaar of wenselijk vindt.
- De houding van mensen ten opzichte van dieren is ambigu. Vraagstukken over de relatie tussen mens en dier verschillen per context en kunnen zelfs voor hetzelfde dier in een andere context verschillen: het gebruik van hetzelfde dier voor een andere toepassing kan juist wel of niet aanvaardbaar zijn of weerstand oproepen.
- De wet- en regelgeving voor het houden van dieren sluit hierop aan. Er zijn verschillende wetten voor verschillende soorten gebruik van dieren, zoals experimenteel gebruik, fokkerij, productie of gezelschapsdieren.
- Voor verschillende toepassingen gelden verschillende drempels ten aanzien van de aanvaardbaarheid van instrumentalisering of aantasting van de integriteit.
- De discussie over genome editing van dieren brengt onherroepelijk ook algemene maatschappelijke vragen met zich mee die gaan over de context van het systeem waarbinnen dieren op dit moment gehouden worden.

3. Mogelijkheden en toepassingen genome editing

De efficiëntie en uitgebreide inzetbaarheid van CRISPR-Cas heeft ervoor gezorgd dat sommige vormen van genoom modificaties bij dieren veel eenvoudiger toe te passen zijn. Het is mogelijk om met behulp van CRISPR-Cas in korte tijd simpele of complexe modificaties aan te brengen, en de techniek is makkelijker toepasbaar bij andere diersoorten dan alleen de traditionele proefdieren (ratten en muizen). Na een korte technische introductie over genetische modificatie bij dieren, worden in dit hoofdstuk de mogelijkheden en toepassingen van genome editing besproken voor huisdieren, xenotransplantatie, *ecological engineering* (populatiecontrole) en proefdieren.

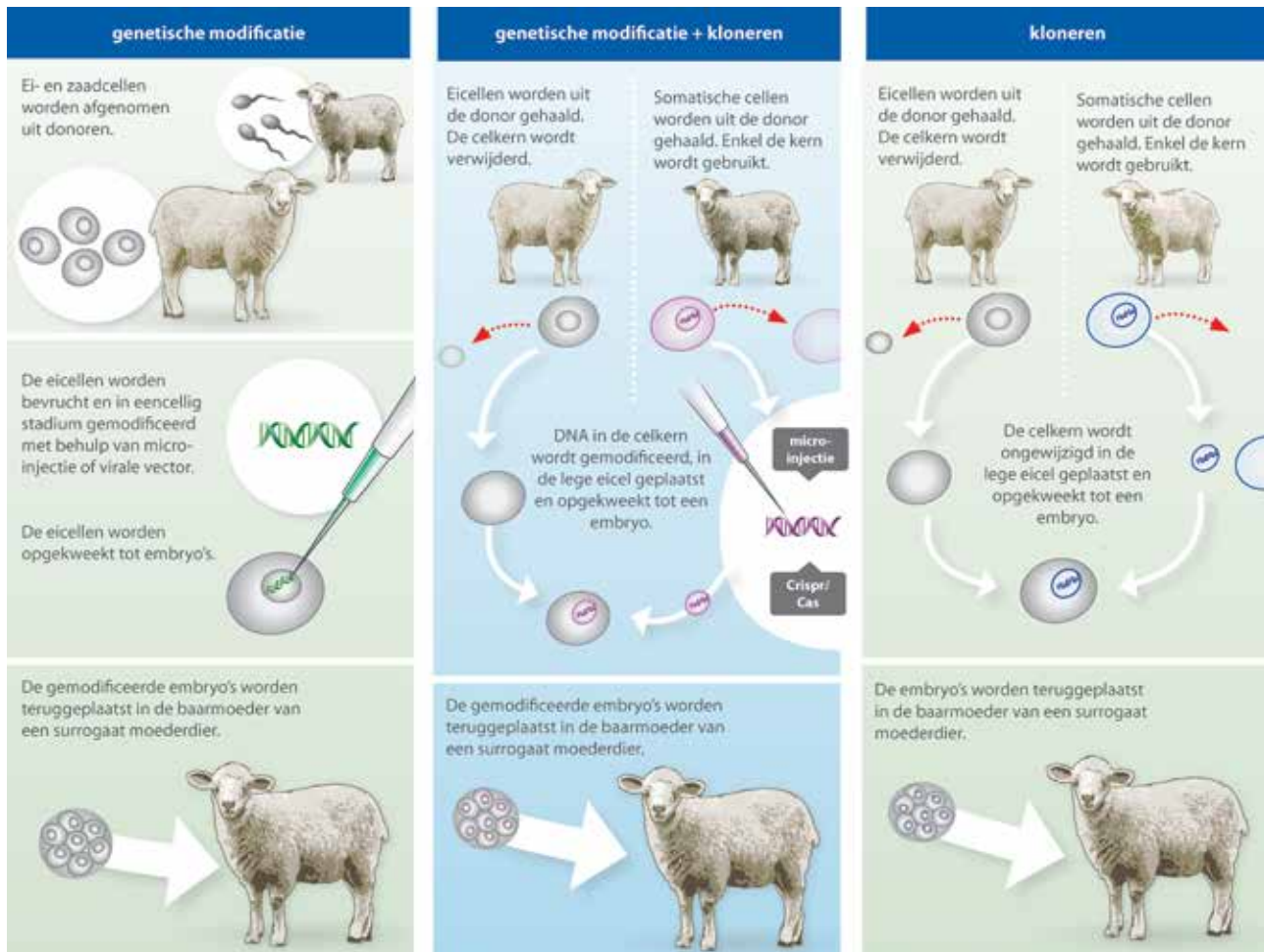
Bij genetische modificatie technieken wordt veelal gebruik gemaakt van zogenaamde homologe recombinatie om transgenen op een specifieke locatie in het DNA van cellen te introduceren. Hierbij wordt het beoogde transgen samen met een DNA sequentie die voor een groot deel overeenkomt met de celeigen DNA sequentie, in de cel ingebracht. Dit kan worden gedaan door bijvoorbeeld micro-injectie, virale transfectie of electroporatie, een techniek waarbij een stroompuls zorgt voor tijdelijke openingen in het membraan dat de cel omgeeft waardoor het DNA de cel kan binnenkomen. Door de overlap (homologe regio's) tussen de sequenties die het transgen flankeren en het celeigen DNA, kunnen de verschillende DNA strengen aan elkaar binden, en kan uitwisseling van de sequenties plaatsvinden. Hiermee kan de ingebrachte sequentie (met transgen) de originele sequentie vervangen, en kunnen nieuwe genen geïntroduceerd worden, of kunnen genen uitgeschakeld of verwijderd worden (zogenaamde 'knock-outs'). Homologe recombinatie is niet erg efficiënt; in slechts ca. 1% van de gekweekte cellen wordt het transgen geïntegreerd.^{30,31}

Vanwege de inefficiëntie van de techniek was toepassing van oudere technieken voor genetische modificatie in ééncellige bevruchte eicellen (zygotes), om de gewenste eigenschap in alle lichaamscellen aanwezig te laten zijn, vaak niet praktisch (veel zygotes nodig). Sinds 1986 worden daarom voor genetische modificatie van dieren vaak embryonale stamcellen gebruikt, omdat deze zichzelf onbeperkt kunnen delen en zich kunnen ontwikkelen tot veel uiteenlopende soorten cellen (pluripotente eigenschappen).³² Om dieren genetisch te modificeren worden embryonale stamcellen van het betreffende dier gemoificeerd en ingebracht in een zich ontwikkelend embryo. Hierdoor ontstaat een chimeer dier dat deels bestaat uit genetische gemoificeerde cellen en deels uit wildtype cellen.

1. Bij toepassing van electroporatie. Transfectie met behulp van micro-injectie verhoogt de efficiëntie, maar is arbeidsintensiever, omdat deze techniek alleen bij één cel tegelijkertijd toegepast kan worden.

Indien de geslachtscellen gevormd worden door het genetische gemodificeerde deel van het dier, kan door terugkruising uiteindelijk een volledig genetisch gemodificeerd dier verkregen worden.

Bij muizen zijn embryonale stamcellen relatief gemakkelijk te verkrijgen en te kweken, maar bij andere diersoorten, voornamelijk (grote) zoogdieren, is dit veel ingewikkelder. Ondanks dat de kennis over het verkrijgen en kweken van embryonale stamcellen in knaagdieren en mensen snel voortgang heeft geboekt, is het onderzoekers tot dusver niet



Figuur 4: Verschillende strategieën om genetisch gemodificeerde dieren te maken. Dit kan door het rechtstreeks modificeren van geslachtscellen of het modificeren van lichaamscellen of stamcellen in combinatie met kloneren.

gelukt om embryonale stamcellen te verkrijgen van landbouwhuisdieren.³⁰ In 2006 is een techniek ontwikkeld om volwassen (gedifferentieerde) cellen van muizen terug te brengen naar pluripotente cellen (ook wel induced pluripotent stem cells (iPSC) genoemd)^m. Deze techniek bleek ook toepasbaar voor mensen, maar slechts zeer beperkt succesvol voor toepassingen bij landbouwhuisdieren.³³ Een alternatieve methode, ter vervanging van embryonale stamcellen of pluripotente stamcellen (iPSC), is de zogenaamde *somatic cell nuclear transfer* (SCNT) waarbij de celkern (nucleus) van een eicel vervangen wordt door de nucleus van een gewone lichaamscel (somatische cel) die reeds genetisch gemodificeerd is (zie **figuur 4**).

De opkomst van deze methode heeft genetische modificatie van (grotere) zoogdieren, waaronder schapen, geiten, varkens en koeien mogelijk gemaakt.^{34,35,30} Hoewel deze methode technisch ingewikkeld is en expertise behoeft, is SCNT voor landbouwhuisdieren de voorkeursmethode om gg-dieren te ontwikkelen.³⁰ Toch bleef genetische modificatie voor sommige diersoorten (bijv. fretten of apen) een probleem, mede door de lage succesratio's van de SCNT.ⁿ Voor deze dieren biedt genome editing uitkomst, doordat dit de mogelijkheid biedt om efficiënter en nauwkeuriger zygotes (bevruchte eicellen) genetisch te modificeren. Zo is in 2015 CRISPR-Cas ingezet om bij fretten mutaties aan te brengen die een ziektebeeld veroorzaken dat vergelijkbaar is met dat van de mens.³⁶

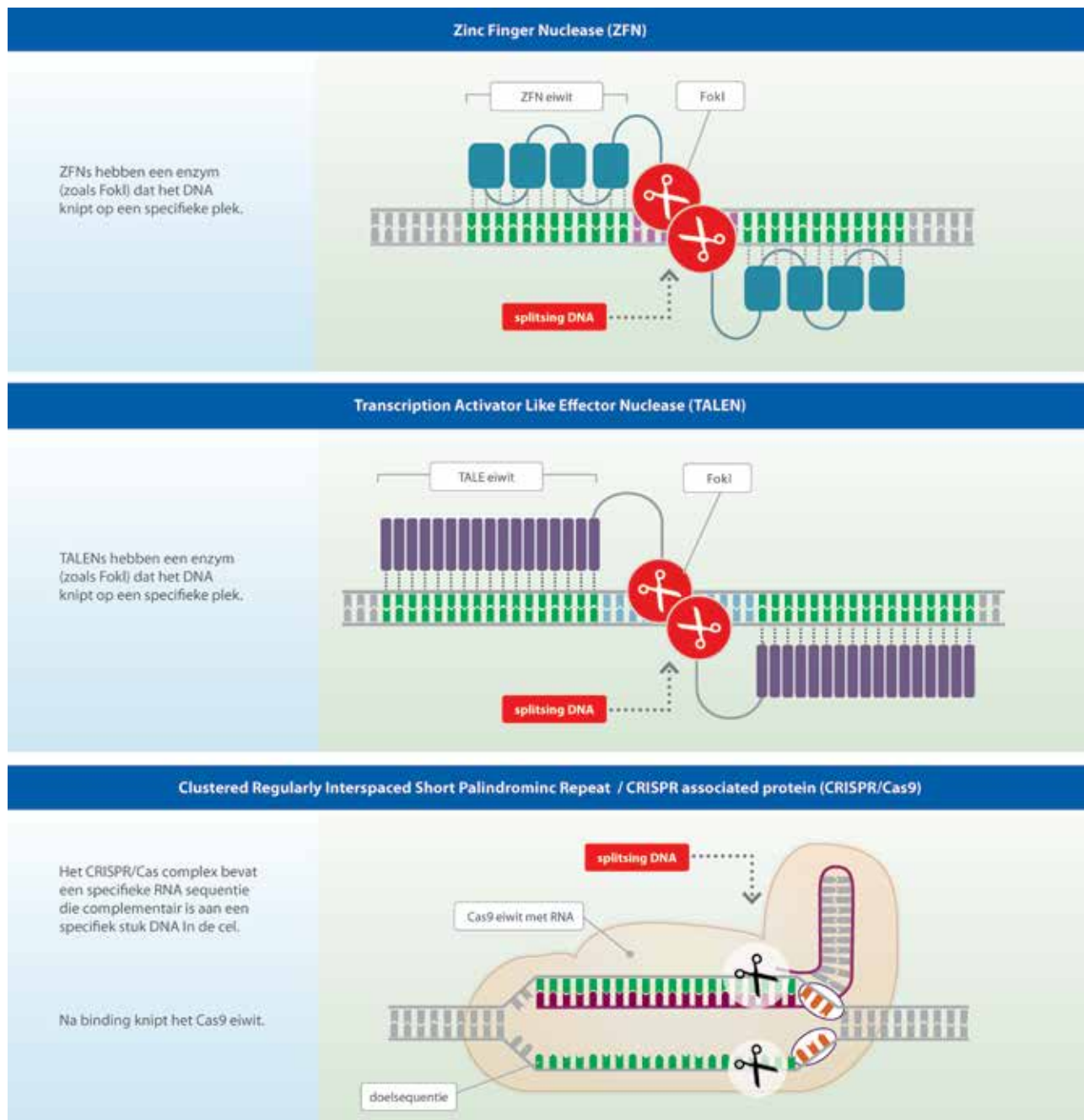
CRISPR-Cas is gemakkelijker toepasbaar en minder arbeidsintensief dan conventionele technieken en heeft de voorkeur boven eerdere genome editing technieken (zie **kader Genome editing: ZFNs, TALENs en CRISPR-Cas**) waar gebruik gemaakt wordt van eiwitten om te binden aan de doelsequentie in het DNA.³⁷ CRISPR-Cas biedt de mogelijkheid om meerdere mutaties tegelijk aan te brengen, waardoor complexe wijzigingen in dieren aangebracht kunnen worden.³⁸ Een onderzoek in geiten heeft aangetoond dat met behulp van CRISPR-Cas meerdere genen tegelijkertijd uitgeschakeld kunnen worden. Zo zijn bij geiten deleties aangebracht in vier verschillende genen (myostatine (MSTN), nucleoporine 155 (NUP), prion-eiwit (PrP) en beta-lactoglobuline (BLG)).³⁹

Genome editing: ZFNs, TALENs en CRISPR-Cas

Bij genome editing zijn twee stappen belangrijk: het knippen van het DNA op de gewenste plaats(en) door een in de cel gebrachte DNA nuclease, gevolgd door de reparatie van het geknipte DNA door een cellulair reparatie mechanisme. Afhankelijk van de twee aanwezige cellulaire reparatiemechanismen (*homology directed repair* (HDR) of *non-homologous end-joining* (NHEJ)) en een ingebracht DNA fragment kan op de knipplaats een (nieuw) DNA fragment geïnsereerd worden of worden er mutaties (deleties, inserties of veranderingen van nucleotiden) aangebracht rondom de knipplaatsen in het DNA. Voor het knippen van het DNA op de gewenste positie zijn in de recente jaren verschillende nucleases ontwikkeld (zie **figuur 5**).

m. Waarvoor de onderzoekers overigens in 2012 de Nobelprijs hebben gekregen.

n. In januari 2018 is het onderzoekers in China voor het eerst gelukt om met behulp van SCNT twee java-apen te klonen.



Figuur 5: Verschillende genome editing technieken: ZFN, TALENs en CRISPR-Cas.

Zinc Finger Nuclease (ZFN): Zinc fingers zijn veelvoorkomende eiwitstructuren die zink-ionen (Zn^{2+}) bevatten en DNA kunnen binden. Het gebruik van zinc fingers voor genome editing technieken is ontwikkeld in 1996.⁴⁰ De zogenaamde zinc finger nucleases (ZFNs) zijn opgebouwd uit meerdere DNA-bindende zinc finger eiwitdomeinen^o, waarbij elk domein bindt aan een reeks van drie nucleotiden, gekoppeld aan een DNA-knippend eiwit (afkomstig van het endonuclease FokI). Om de ZFN op een specifieke plaats in het DNA te laten binden, moeten verschillende combinaties van zinc finger domeinen worden getest, waardoor het ontwikkelen van ZFNs zeer ingewikkeld, tijdsintensief en kostbaar is.

Transcription Activator Like Effector Nuclease (TALEN): De genome editing techniek TALEN is in 2010 geïntroduceerd.⁴¹ Bij deze techniek wordt gebruik gemaakt van hetzelfde nuclease als bij de ZFN techniek, maar bij TALENs is dit nuclease verbonden met een DNA-bindend eiwitdomein afkomstig van *Transcription Activator Like Effector* (TALE) eiwitten van plantpathogene bacteriën van het genus *Xanthomonas*. TALENs bestaan uit herhaalde aminozuursequenties van ca. 34 aminozuren waarbij de aminozuren op positie 12 en 13 bij elke herhaling variëren. De combinatie van TALE domeinen bepaalt welke sequentie wordt gebonden. Hoewel dankzij deze directe relatie tussen de variabele aminozuren en de gebonden nucleotide de ontwikkeling van TALENs gemakkelijker is dan die van ZFNs, is het proces tijdrovend. Ook zijn TALENs vaak te groot of complex om door middel van virussen overgebracht te worden naar de gastheercel.

Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat /CRISPR-associated protein 9 (CRISPR)/Cas9): Deze techniek is gebaseerd op een verdedigingssysteem dat in veel bacteriesoorten (>40%) voorkomt en deze bacteriën beschermt tegen 'vreemd' (bijvoorbeeld viraal) DNA. Het systeem dankt zijn naam aan het gebruik van zogenaamde '*clustered regularly interspaced short palindromic repeats*', (CRISPR) om het vreemde DNA te herkennen. Dit zijn korte non-repetitieve nucleotidensequenties (zogenaamde *proto-spacer* sequenties) die zijn gelegen tussen zich wel herhalende nucleotidensequenties in het bacteriegenoom. Verscheidene bacteriële eiwitten die DNA of RNA kunnen modifieren zijn geassocieerd aan deze sequenties, de zogenaamde CRISPR-associated (Cas) eiwitten. Doordat het CRISPR DNA codeert voor korte CRISPR RNA (crRNA) moleculen welke de Cas eiwitten naar een specifieke sequentie (doelsequentie) op het vreemde DNA sturen, waarna het Cas9 eiwit (dat over nuclease-activiteit beschikt) een (dubbelstrengs) knip aanbrengt in dit DNA. Hierbij wordt de doelsequentie herkend door de 20-nucleotiden lange *proto-spacer* sequentie in het crRNA.⁴²

Voor genome editing wordt gebruik gemaakt van het Cas9 eiwit en een aangepast *guide* crRNA. De sequentie wordt daarbij zodanig gekozen en gemaakt dat het Cas9 eiwit op de gewenste positie in het DNA knipt. Om de specificiteit van CRISPR-Cas te vergroten zijn er onder meer verschillende CRISPR nucleases ontwikkeld en wordt er veel onderzoek gedaan om het systeem verder te verbeteren.^{43,44}

Het DNA-bindende 'domein' bij CRISPR-Cas9 bestaat dus uit een klein (*guide*) RNA dat relatief gemakkelijk is aan te passen aan de gewenste doelsequentie, in tegenstelling tot de eiwitten van de ZFNs en de TALENs. Het aantal publicaties waarin gebruik is gemaakt van CRISPR-Cas genome editing technieken is de afgelopen jaren exponentieel toegenomen en CRISPR lijkt de andere technieken grotendeels te hebben verdrongen.⁴⁵

o. Eiwitten bestaan uit polymere ketens van aminozuren. Een eiwitmotief of eiwitdomein is een terugkerend patroon van opeenvolgende aminozuren in een eiwit. Deze domeinen zijn zeer stabiel en vouwen vaak onafhankelijk van de rest van de eiwitketen.

Genetische modificatie bij vogels is in vergelijking met de andere dieren pas later op gang gekomen. De gebruikelijke methoden om transgene zoogdieren te ontwikkelen zoals genetische modificatie van embryonale stamcellen of het injecteren van genetisch materiaal in de nucleus van een ééncellig zygote zijn niet mogelijk bij vogels vanwege hun voortplantingssysteem. Daarom worden bij genetische modificatie van vogels vaak de zogenaamde *primordial germ cells* (PGCs) gebruikt.⁴⁶ Dit zijn stamcellen die later de geslachtscellen (eicellen of zaadcellen) zullen vormen. PGCs van zoogdieren migreren door het embryonale weefsel om zich in de geslachtsorganen te vestigen, maar bij vogels worden de PGCs getransporteerd via het bloed. Door gebruik te maken van deze eigenschap heeft de genetische modificatie van kippen een flinke sprong gemaakt. In 2006 is een eerste studie geweest waarin aangetoond werd dat PGCs kunnen worden geïsoleerd, gekweekt en getransformeerd, en worden teruggeplaatst in een vogelembryo. De vogel zal de genetische modificatie door geven aan de nakomelingen (kiembaantransmissie).⁴⁷ In 2013 is een eerste studie gepubliceerd waarbij gg-vogels zijn ontwikkeld door de PGCs *in vivo* te transformeren.⁴⁸ Door de opkomst van nieuwe gerichte genome editing technieken, waaronder CRISPR-Cas, heeft ook de aviaire biotechnologie een impuls gekregen.

In dit hoofdstuk worden verschillende toepassingsmogelijkheden van genome editing bij dieren besproken op basis van recente wetenschappelijke ontwikkelingen op het gebied van (landbouw)huisdieren, xenotransplantatie, *ecological engineering* en proefdieren. Er zijn voorsnog geen commerciële toepassingen van genome editing bij dieren met uitzondering van proefdieren voor medisch onderzoek.

3.1 Huisdieren

Onder huisdieren wordt verstaan gedomesticeerde dieren die in en om het huis leven en door mensen worden gevoed en verzorgd. Er kan een onderscheid gemaakt worden tussen landbouwhuisdieren (zoals runderen, varkens, schapen, geiten, paarden, pluimvee) en gezelschapsdieren (zoals honden, katten, vogels, knaagdieren). Met fokkerij gaan collectieve belangen gepaard zoals productieverhoging en -verbetering maar ook milieu en biodiversiteit, die de individuele fokker soms te boven gaan. Daarom worden fokkerijdoelen geformuleerd op het niveau van een populatie in een fokverband zoals stamboeken, fokkerijorganisaties, kwekers- en rasverenigingen. Om de beoogde veranderingen te realiseren, worden vervolgens keuzes gemaakt op het niveau van individuele dieren.

Er wordt al lange tijd onderzoek uitgevoerd naar genetische modificatie van landbouwhuisdieren. Al in 1990 werd in Nederland het eerste gg-dier gemaakt. Het DNA van Stier Herman, gemaakt door het biotechnologie bedrijf Pharming, bevatte een gen dat codeerde voor lactoferrine, een humaan ontstekingsremmend eiwit. Ook schapen en geiten zijn al langere tijd populaire dieren voor genetische modificatie en andere biotechnologische technieken, zoals kloneren. Zo was het schaap Dolly het eerste gekloonde zoogdier^p in 1996, en was één van de

p. Al in 1952 werd het kloneren van kikkers beschreven (Briggs and King, PNAS 38:455 (1952)).

eerste transgene landbouwhuisdieren in 1997 eveneens een schaap.⁴⁹ De geit was het eerste genetisch gemodificeerde dier waarvan een product (antithrombine in de melk) op de markt is gebracht. Toepassingen van genome editing bij huisdieren zijn – op enkele uitzonderingen na (**zie kader Huisdieren en biohackers**) – vooralsnog vrijwel uitsluitend gericht op landbouwhuisdieren.

Huisdieren en biohackers

In de literatuur zijn enkele toepassingen van genome editing bij gezelschapsdieren genoemd. In China zijn zogenaamde ‘micropigs’ ontwikkeld; varkens die maximaal 15 kg wegen en zo groot zijn als een teckel. Deze varkens werden oorspronkelijk ontwikkeld voor onderzoek en vervolgens aangeboden als huisdier.^{50,51} Dit plan werd later echter weer teruggetrokken. Hetzelfde gebeurde in het verleden bij gg-zebravissen met een fluorescentiegen. Deze zogenaamde ‘gloeivisjes’ waren eveneens afkomstig uit onderzoek, maar worden inmiddels in het buitenland verkocht aan aquariumliefhebbers en soms illegaal geïmporteerd in Nederland. De visjes zijn illegaal voor commercieel gebruik omdat hiervoor geen markttoelating is aangevraagd.

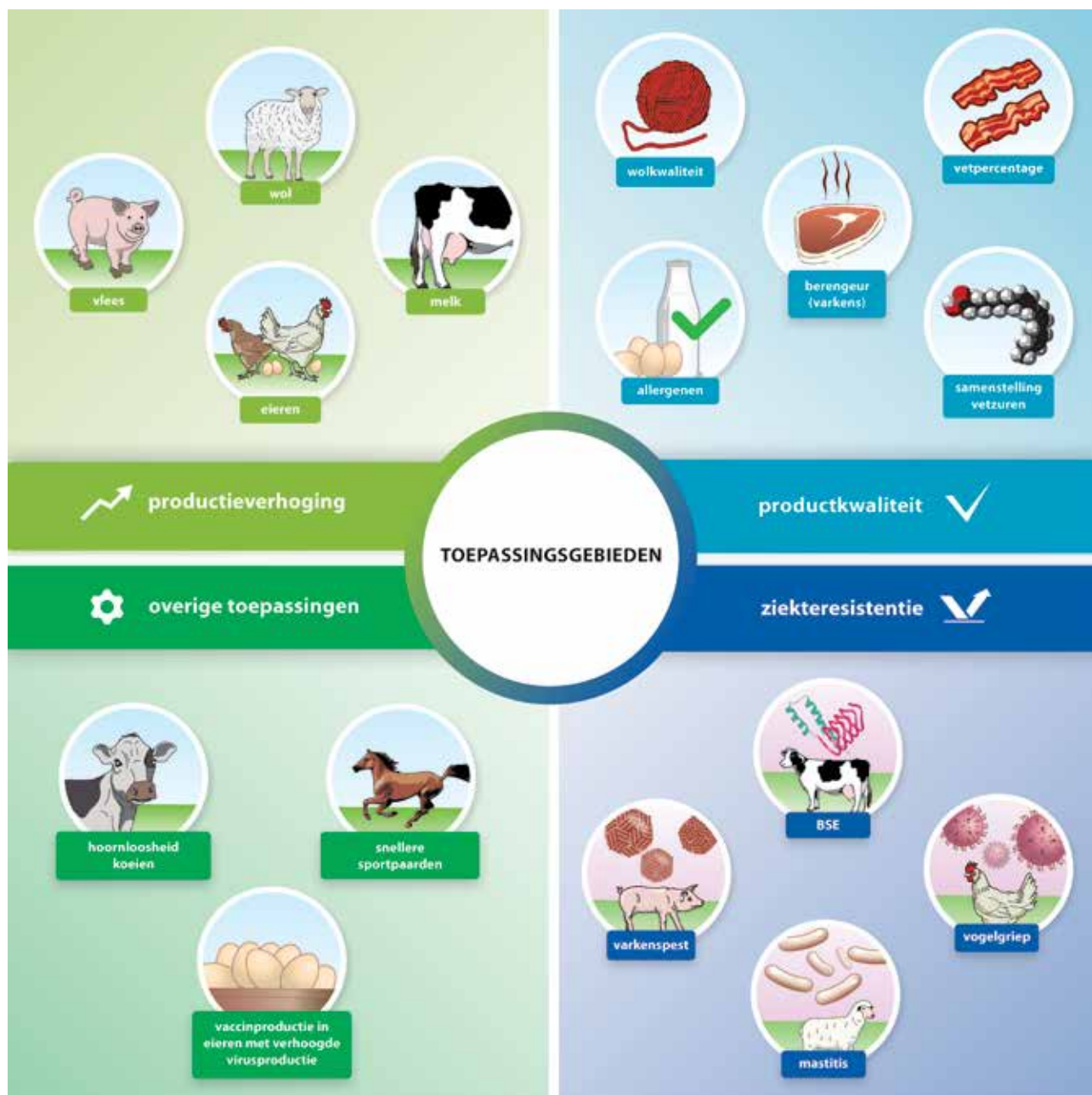
Ook zijn in China in 2015 twee honden (beagles) genetisch gemodificeerd, waarbij het zogenaamde myostatine gen uitgeschakeld werd en de spiermassa verdubbelde. De onderzoekers stelden dat deze toename in spiermassa ten gunste was van de snelheidscapaciteit, waardoor deze honden uitermate geschikt zouden zijn om in te zetten voor politie of militaire doeleinden.^{52,53}

Genome editing bij honden biedt mogelijk perspectieven om genetische afwijkingen te verhelpen die kenmerkend zijn voor verschillende hondenrassen (door inteelt en selectief fokken op uiterlijke kenmerken). Een hondenfokker in Amerika bouwde in zijn achtertuin een klein genetisch lab met een online verkregen *genome editing* kit en DNA. Deze biohacker (*do-it-yourself* wetenschapper) was van plan om verschillende hondenrassen te genezen van een rasspecifieke genetische aandoening (bijvoorbeeld blaasproblemen bij dalmatiërs door nierstenen).^{54,55} De Amerikaanse Food & Drug Administration (FDA) heeft hier echter een stokje voor gestoken door de regelgeving aan te passen voor dieren die ontwikkeld zijn door middel van genome editing technologieën.⁵⁶

In de fokkerij van landbouwhuisdieren wordt geselecteerd op eigenschappen ten aanzien van ziekteresistentie en productieverhoging en -verbetering. Ook genome editing onderzoek richt zich op deze eigenschappen, met name voor de veeteelt en pluimveehouderij (**zie figuur 6**).^{57,58} Er bestaat een wereldwijde internationale handel in genetisch materiaal (eicellen, zaadcellen en embryo's). Op het gebied van bijvoorbeeld de rundveehouderij zijn de Verenigde Staten en Canada grote spelers in deze handel, gevolgd door Nederland.⁵⁹

3.1.1 Productieverhoging

Genetische aanpassingen gericht op productieverhoging van landbouwdieren zijn voornamelijk gericht op een hogere productie van vlees, maar kunnen ook bij andere producten, zoals wol, worden toegepast. Productieverhoging kan ook door traditioneel fokken bewerkstelligd worden. Door dieren met gunstige eigenschappen te selecteren voor de fok, kunnen deze behouden worden in de populatie. Deze eigenschappen blijken soms echter ook gerelateerd aan een verhoogde kans op het ontstaan van gedrags-, fysieke, of immuno-



Figuur 6: Onderzoek naar genome editing bij landbouwhuisdieren is voornamelijk gericht op de toepassingsgebieden productieverhoging, productkwaliteit en ziekteresistentie.

logische problemen.⁶⁰ Dit kan worden verklaard doordat de genen voor deze eigenschappen op het chromosoom dicht bij elkaar kunnen zitten en moeilijk gescheiden kunnen worden tijdens de meiose^q, de genproducten met elkaar interacteren, of omdat een enkel gen soms ook meerdere eigenschappen kan beïnvloeden.⁶⁰ Hier kunnen de genome editing technieken mogelijk uitkomst bieden, doordat modificaties aan het genoom zeer gericht toegepast kunnen worden.⁶¹ Echter, andere mogelijk nadelige effecten zoals off-target effecten, pleiotropie^r of epigenetische effecten, kunnen niet (volledig) worden uitgesloten. Daarnaast kan een verhoging van de productie of groeisnelheid, of dit nu door selectie of genetische modificatie wordt bewerkstelligd, inherente problemen met zich meebrengen wanneer de skelet- en spierstructuur van een dier niet mee veranderen (**zie kader Gezondheidsproblemen door selectie op spiermassa**).²⁸ Dit is een bekend probleem in de veredelingssector.⁶²

Gezondheidsproblemen door selectie op spiermassa

Bij verschillende landbouwhuisdieren die in de veeteelt gebruikt worden voor de productie van vlees (koeien⁶³, varkens^{64,65}, schapen^{63,66} en geiten^{39,67}) is onderzoek uitgevoerd om het myostatine gen uit te schakelen, dat een belangrijke functie heeft bij het reguleren van de spiermassa. Het eiwit myostatine remt de spierontwikkeling, waardoor dieren waarin dit gen is uitgeschakeld meer spiermassa aanmaken en de vleesproductie omhoog gaat. Deze eigenschap komt ook van nature voor in dieren. Het runderras Belgisch witblauw heeft een mutatie in het myostatine gen dat op spontane wijze is ontstaan en door selectief fokken in stand is gehouden. Om myostatine-mutaties via conventionele veredeling te introduceren in een runderras is echter zeer tijdsintensief. Zo heeft het tientallen jaren geduurd voordat het Belgisch witblauw ras is ontwikkeld. Verhoging van de spiermassa kan ook negatieve effecten op de gezondheid van het dier hebben. Het Belgisch witblauw ras staat erom bekend dat kalveren meestal via een keizersnee ter wereld moeten komen, en kalveren ondervinden vaak problemen aan hun poten of problemen met de ademhaling vanwege een vergroting van de tong.⁶⁸ Deze gezondheidsproblemen zijn gerelateerd aan een specifieke mutatie in het myostatine-gen. Onderzoekers proberen deze gezondheidsproblemen te voorkomen door met genome editing andere mutaties in het myostatine gen aan te brengen die wel leiden tot een verhoging van de spiermassa, maar minder nadelige fysieke effecten hebben dan de mutaties die voorkomen in het Belgisch witblauw ras.^{61,69}

Naast onderzoek naar de mogelijkheden van genome editing voor productieverhoging en verbetering bij runderen, wordt tevens gewerkt aan toepassingen bij andere productiedieren, zoals schapen en geiten.

In Zuid-Amerika en China ontwikkelen onderzoekers gg-schapen waarin twee eigenschappen van verschillende rassen gecombineerd worden. Schapen die gefokt worden om hun hoge kwaliteit wol, zoals merinoschapen, bevatten relatief weinig vlees. Andere schapenrassen, zoals de Texelaar, zijn sterk gespierd maar hebben geen uitzonderlijke wolopbrengst.

q. Zogenaamde reductiedeling waarbij de hoeveelheid chromosomen in de cel gehalveerd wordt voor de productie van de voorplantingscellen.

r. Pleiotropie: hierbij kan een gen meer dan één fenotypisch effect hebben. Een wijziging van het gen om één eigenschap te veranderen, kan hierdoor ook nog een extra effect hebben, positief danwel negatief.

De onderzoekers zijn erin geslaagd om het myostatine gen te verwijderen met behulp van CRISPR-Cas9, waardoor de spiermassa in de schapen toeneemt.⁶⁶ Huidige werkzaamheden richten zich op het verbeteren van de wolproductie door het *FGF5* gen uit te schakelen, dat haargroei remt.⁷⁰ Het beoogde doel is om deze eigenschappen te combineren in één dier, zodat het zowel voor de wolproductie als vleesproductie gebruikt kan worden.

In China vindt onderzoek plaats aan kasjmiergeiten, die voornamelijk bekend staan om hun goede kwaliteit wol, maar ook gebruikt worden voor hun vlees. Onderzoekers willen bij deze geiten de productie van zowel het wol als het vlees verhogen door het myostatine-gen en het *FGF5* gen te veranderen met behulp van CRISPR-Cas9.⁶⁷ De eerste kasjmiergeiten waarin beide genen verstoord zijn lopen inmiddels rond op een terrein van een universiteit in China.

Bij schapen is naast de vlees- en wolproductie ook onderzoek uitgevoerd naar de bevordering van de reproductie door genetische modificatie. Eerder is gebleken dat mutaties in het *BMPR-IB* gen bij andere diersoorten leiden tot een snellere ovulatiecyclus en meer nakomelingen.⁷¹ Meer onderzoek is nodig voordat er uitspraken gedaan kunnen worden over het effect van deze genetische modificatie in volwassen schapen.

Het onderzoek naar productieverhoging van landbouwhuisdieren door genome editing bevindt zich nog in het pioniersstadium. De resultaten zijn veelbelovend, maar er zijn ook nog diverse barrières te beslechten ten aanzien van de efficiëntie van de techniek. Zo is het bij schapen en geiten vooralsnog met genome editing alleen mogelijk om mutaties en deleties te veroorzaken, en niet het inbouwen van transgene sequenties.^{35,71} Bij varkens zijn er wel enkele succesvolle pogingen geweest om een gen in te brengen.^{72,73}

3.1.2 Ziekteresistentie

Genetische aanpassingen om ziekteresistentie te verhogen of verkrijgen zijn vooral gericht op infectieziekten die grote of ernstige schade kunnen berokkenen aan de veestapel. Dierziekten kunnen worden veroorzaakt door virussen, bacteriën of andere ziekteverwekkers zoals prionen (abnormale en infectieuze eiwitten). Afhankelijk van de ernst van de ziekte en de verspreidingsgraad, kunnen ziekten bij landbouwhuisdieren grote economische schade aanrichten.

Bij melkvee kan bijvoorbeeld mastitis, een pijnlijke melkklierontsteking veroorzaakt door bacteriën, grote financiële consequenties hebben die jaarlijks in Nederland op kunnen lopen tot meer dan 100 miljoen euro.^{74,75} De schade komt voort uit productieverlies (melk van zieke dieren en dieren die antibiotica krijgen, mag niet gebruikt worden voor consumptie), behandelingskosten en soms kosten voor het voortijdig afvoeren van zieke dieren. Over het algemeen is mastitis goed te behandelen met antibiotica. Wanneer koeien niet reageren op antibiotica vormen zij een risico voor andere dieren en moeten er maatregelen genomen worden om besmetting van andere dieren te voorkomen. Bij chronische gevallen die op geen enkele behandeling reageren, is ruiming vaak de enige optie.⁷⁴

In 2014 is in een onderzoek bij koeien met behulp van ZFNs een humaan transgen ingebracht dat resistentie geeft tegen bacteriën die mastitis veroorzaken.⁷⁶ De melk van deze transgene koeien bevatte een enzym, humaan lysozym, dat de groei van de bacteriën voorkomt. Van de twintig transgene koeien die blootgesteld werden aan verschillende bacteriën, is in tegenstelling tot controle dieren, geen enkele melkklier geïnfecteerd geraakt.

Ook wordt gewerkt aan resistentie tegen tuberculose en de prionziekte Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) bij runderen.^{77,78} Prionen veroorzaken de gekkekoeienziekte (BSE) die via het eten van vlees overgedragen kan worden naar mensen waardoor de ernstige aandoening Creutzfeld-Jacob kan ontstaan.⁷⁹ Onderzoekers hebben met behulp van CRISPR-Cas het prion-gen PRNP verstoord, waardoor geen prionen meer zouden kunnen ontstaan.

Uitbraken van besmettelijke dierziekten zijn vanwege hun grote economische consequenties meldingsplichtig. Na een uitbraak van klassieke varkenspest in 1997/1998 in Nederland, werd de economische schade geschat op meer dan 2 miljard euro.⁸⁰ Deze virusziekte kenmerkt zich door koorts, darmproblemen, longontstekingen en sterfte bij jonge biggen en is zeer besmettelijk⁸¹. Omdat behandeling niet mogelijk is, wordt het besmette bedrijf geruimd en worden omliggende bedrijven preventief geruimd. Naast economische consequenties, leidt het (preventief) ruimen van grote hoeveelheden dieren ook tot maatschappelijke discussie.

Daarom wordt onderzoek gedaan naar het ontwikkelen van resistentie tegen besmettelijke ziekten bij bijvoorbeeld varkens. Inmiddels zijn er verschillende studies gepubliceerd waarin varkens en varkensembryo's met behulp van genome editing gemodificeerd werden om resistentie tegen het *African swine fever virus* te ontwikkelen.^{82,83} Daarnaast wordt er onderzoek gedaan in varkens om resistentie te induceren tegen het 'Porcine reproductive and respiratory syndrome virus' (PRRSV) dat respiratoire en vruchtbaarheidsstoornissen bij varkens veroorzaakt en gepaard gaat met grote economische verliezen.^{84,85}

Bij pluimvee kan vogelgriep (aviaire influenza) naast grote economische gevolgen, ook een risico voor mensen met zich meebrengen (bij mensen kan het virus milde tot zeer ernstige ziekte veroorzaken). Wilde (water)vogels vormen een risico voor de pluimveesector, omdat zij als reservoir dienen voor aviaire influenza. Zij kunnen het virus bij zich dragen en uitscheiden (bijvoorbeeld via uitwerpselen), maar worden er zelf niet altijd ziek van. Er zijn twee vormen van vogelgriep te onderscheiden, een milde en een ernstige vorm. Bij de ernstige vorm van vogelgriep kan acute sterfte optreden onder vogels, en kan het sterftepercentage oplopen tot 100%.⁸⁶ De milde vorm geeft nauwelijks ziekteverschijnselen, maar kan mogelijk muteren naar de gevaarlijke vorm. Om deze reden worden in Nederland zowel bij de milde als bij de ernstige vorm van aviaire influenza pluimveebedrijven geruimd.⁸⁷ Daarnaast moeten bedrijven in de nabijheid van een besmet bedrijf maatregelen nemen om besmetting te voorkomen (zoals ophokplicht). In 2014 veroorzaakte de vogelgriep 10

miljoen euro schade per week.⁸⁸ Het is mogelijk om pluimvee te vaccineren, maar het ontwikkelen van een vaccin is kostbaar, het is niet altijd effectief en er is weerstand vanuit het buitenland tegen het afnemen van producten van gevaccineerde dieren.⁸⁹ Daarom wordt vaccinatie doorgaans niet toegepast.

Met behulp van genome editing wordt onderzoek gedaan naar de genen die betrokken zijn bij infectie met en resistentie tegen het virus in kippen⁹⁰ en verwante vogels (zoals eenden, die vaak drager zijn van het virus, maar zelf geen ziekteverschijnselen vertonen).⁹¹ In 2011 hebben onderzoekers in Engeland transgene kippen ontwikkeld die geïnfecteerd kunnen raken, maar het virus niet verspreiden.^{92,93}

Naast aviaire influenza wordt onderzoek uitgevoerd naar resistentie tegen aviaire leukose, veroorzaakt door het *Avian leukosis virus* (ALV), dat kanker veroorzaakt in kippen en waar geen geneesmiddel voor beschikbaar is. Eerst is achterhaald welke genen en eiwitten betrokken zijn bij infectie van het virus⁹⁴, en later is met behulp van gerichte genome editing het doelwitgen verstoord, waardoor kippencellen resistent werden tegen ASLV.⁹⁵

3.1.3 Productkwaliteit

Genetische aanpassingen bij dieren met als doel verbetering van de productkwaliteit zijn gericht op het veranderen van de samenstelling van dierlijke producten (zoals vetpercentage), het verwijderen van eigenschappen die onwenselijke effecten kunnen veroorzaken (zoals allergenen) of het toevoegen van nieuwe eigenschappen (zoals de productie van stoffen die geassocieerd worden met gezondheidsvoordelen zoals omega vetzuren).

Sommige dierlijke eiwitten (kippeneiwit of koemelkeiwit) kunnen bij mensen allergische reacties opwekken. Ongeveer twaalf procent van alle jonge kinderen in Nederland ontwikkelt een koemelkallergie. Het overgrote deel van deze kinderen (85%) groeit hier voor hun 5de levensjaar overheen en slechts een klein deel blijft allergisch.^{96,97} Allergische reacties tegen kippeneiwitten komen voor bij ongeveer twee procent van alle kleine kinderen. Minder dan één procent van alle volwassenen blijft allergisch.⁹⁸ De allergische reacties leiden tot klachten van de luchtwegen, het maagdarmkanaal; in ernstige gevallen kan de reactie een anafylaxie (shock) veroorzaken en levensbedreigend zijn.

In 2016 is er onderzocht of het mogelijk is om twee eiwitgenen, ovalbumin en ovomucoid (die geassocieerd zijn met allergische reacties in mensen) verminderd tot expressie te laten komen in kippen met behulp van CRISPR-Cas.⁹⁹ Mogelijk kunnen hiermee in de toekomst kippen gecreëerd worden die hypoallergene eieren kunnen leggen. Dit is eveneens van belang voor de vaccinproductie die voor bepaalde virussen in eieren plaatsvindt (**zie ook 3.1.4**).

Bij koeien en geiten is het gen dat codeert voor het allergeen beta-lactoglobuline (blg-gen) verwijderd met verschillende genome editing technieken teneinde hyperallergene melk te verkrijgen. De resulterende dieren produceerden minder of zelfs geen beta-lactoglobuline meer.¹⁰⁰ In China is in 2011 een kudde transgene koeien ontwikkeld (ruim 300 dieren) die

humane genen bevatten, waardoor zij melk produceren die 80% gelijkenis vertoont met de menselijke moedermelk.¹⁰¹ De melk is echter tot op heden nog niet op de markt gebracht.

Naast het verwijderen van elementen die allergene reacties kunnen veroorzaken, wordt ook gewerkt aan het toevoegen van elementen om de productkwaliteit te verbeteren. Een onderzoeksgroep in Amerika heeft transgene geiten ontwikkeld die een humaan lysozym voor de behandeling van diarree tot expressie brengen in hun melk.^{102,103} De onderzoekers zien dit als een eerste stap in de ontwikkeling van voedingsmiddelen die bij kunnen dragen aan de gezondheid van mensen, voornamelijk in ontwikkelingslanden.

Ook bij varkens wordt genome editing toegepast om de productkwaliteit te beïnvloeden. In China zijn gg-varkens ontwikkeld waarin met behulp van CRISPR-Cas9 een gen is aangebracht dat van nature niet in varkens voorkomt. De aanwezigheid van dit gen zorgt ervoor dat er meer vetverbranding optreedt, waardoor de dieren volgens de onderzoekers beter bestand zijn tegen lage temperaturen. Volgens de onderzoekers verbetert hierdoor de voedingsefficiëntie, en kunnen deze nieuwe eigenschappen bijdragen aan de kwaliteit van het vlees, doordat er minder vet opgeslagen wordt.^{104,105}

Onderzocht wordt of met behulp van genome editing iets gedaan kan worden aan de zogeheten 'berengeur' bij mannelijke varkens. Het vlees van mannelijke varkens kan door veranderingen in de hormoonhuishouding een onaangename 'berengeur' afgeven tijdens het bereiden. Tegenwoordig komt de berengeur slechts bij 3 tot 4 procent van de niet gecastreerde beren voor.¹⁰⁶ Om berengeur te voorkomen, worden de biggen op jonge leeftijd gecastreerd. Dit is kostbaar en verdoving of pijnbestrijding wordt niet altijd toegepast, hoewel dit in Nederland aan het veranderen is.¹⁰⁷ Onderzoekers hebben met behulp van genome editing een methode ontwikkeld waarbij mannelijke varkens nooit in de puberteit komen en chemische of fysieke castratie voorkomen kan worden.¹⁰⁸ Wat de effecten zijn op de voedingsefficiëntie, dierenwelzijn en de kwaliteit van het vlees en de vruchtbaarheid moet nog onderzocht worden.

Ook aan minder voor de hand liggende eigenschappen wordt gewerkt. Een Chinese studie waarbij varkens genetisch gemodificeerd zijn om als ziektemodel voor de mens te dienen (Ziekte van Von Willebrand, een bloedstollingsstoornis), biedt volgens de onderzoekers ook mogelijkheden in de voedselindustrie. Bij deze dieren is een gen, betrokken bij de bloedstolling, uitgeschakeld waardoor de stolling van het bloed verstoord wordt. Omdat resterend bloed in vlees een ideaal medium voor bacteriën is, zouden deze genetisch gemodificeerde varkens op een efficiëntere manier geslacht kunnen worden, doordat zij sneller leegbloeden.¹⁰⁹

3.1.4 Overige toepassingen

Naast productieverhoging, ziekteresistentie en productkwaliteit, worden ook andere eigenschappen in dieren veranderd met behulp van genome editing. Enkele voorbeelden worden hier genoemd.

Het onthoornen van koeien is gangbare praktijk en wordt toegepast om de veiligheid voor mens en dier te waarborgen en huisvesting in bijvoorbeeld ligboxstallen te vergemakkelijken. Gehoornde koeien die hoog in de sociale rangorde staan, kunnen zwakkere stalgenoten verwonden bij competitie om voer of drinken. Koeien met horens hebben meer ruimte nodig omdat ze elkaar anders beschadigen, en ze kunnen vast komen te zitten na het eten.¹¹⁰ Onthoornen wordt voornamelijk bij kalveren gedaan door de hoornpit met chemische of thermische middelen dicht te branden; alleen wanneer de horens aan de basis verwijderd worden, zal dit doorgroei voorkomen. Deze methode wordt minder invasief geacht dan chirurgische verwijdering (voornamelijk toegepast in volwassen dieren), maar is alsnog een stressvol en pijnlijk proces. In Europa is ongeveer 80% van de melkkoeien onthoorned, en slechts een klein deel van de melkveebedrijven (ongeveer 20%) maakt gebruik van pijnstilling.¹¹¹ Hoornloosheid bij runderen is ook aanwezig door een mutatie die van nature regelmatig voorkomt. Hoornloze koeien zouden derhalve ook ontwikkeld kunnen worden door traditionele kruising, maar dit is een langdurig proces en kan een negatief effect op de vlees- en melkproductie hebben.¹¹² Onderzoekers zijn er in geslaagd om met behulp van genome editing hoornloze koeien te ontwikkelen.¹¹³ Met gebruik van TALENs is het *Polled* gen (afkomstig van natuurlijk hoornloze koeien) ingebracht in embryonale cellen. Spotigy en Buri zijn de namen van twee gezonde homozygote hoornloze kalveren die volgens de onderzoekers als voorbeeld dienen voor het toepassen van genome editing technieken in de veehouderij.

Naast de productie van hypoallergene eieren is genome editing ook gebruikt om de vaccinproductie in eieren te verhogen. Een aantal vaccins wordt geproduceerd in eieren, maar de opbrengst wordt belemmerd door verschillende technische factoren. In kippen zijn de genen geïdentificeerd die de virusvermenigvuldiging tegengaan en met behulp van CRISPR-Cas9 gemodificeerd. Hierdoor kunnen in de bevruchte kippeneieren veel hogere vaccintiters worden bereikt, zijn minder eieren nodig en worden de kosten voor het produceren van vaccins verlaagd.^{114,115}

In de media wordt ook gesproken over genome editing bij sportpaarden. Onderzoekers in Argentinië hebben met behulp van CRISPR-Cas paardenembryo's geproduceerd waarin het myostatine gen verstoord is om de spierontwikkeling te bevorderen. De onderzoekers hopen hiermee de prestaties van de paarden te verbeteren. De onderzoekers verwachten dat de eerste paarden gemodificeerd met behulp van genome editing in 2019 geboren zullen worden.^{116,117}

Het genetisch aanpassen van (landbouw)huisdieren voor productieverhoging, ziekteresistentie en productkwaliteit roept zowel technische en praktische als ethische vragen op (**zie kader A**). Het voorbeeld van hoornloze koeien wordt veel in de media genoemd. Dit betreft echter één van de weinige eigenschappen die door één gen vastgelegd wordt (monogeneetisch). Veel eigenschappen zijn polygeen^s en vormen daarmee een complex doelwit voor genetische modificatie of genome editing.

s. Polygenetische eigenschappen zijn kenmerken die bepaald worden door een combinatie van de informatie op meerdere genen, i.t.t. monogenetische eigenschappen die slechts op één gen liggen.

Een aantal toepassingen van genome editing in landbouwhuisdieren lijkt nabij marktklaar. Echter, het introduceren van een nieuwe eigenschap in bestaande populaties (waarbij variatie en andere zorgvuldig geselecteerde eigenschappen behouden moeten worden) zal naar verwachting vanaf de eerste introductie minimaal 5 tot 10 jaar in beslag nemen. De markttoelating van genetisch gewijzigde dieren zelf is daarnaast een onvoorspelbaar proces.

A. Maatschappelijke vraagstukken

Genome editing bij productiedieren biedt mogelijkheden die ook een (relatief) voordeel vanuit dierenwelzijn kunnen opleveren, zoals ziekteresistentie. Het aanpassen van genetische eigenschappen ten behoeve van productieverhoging brengt echter vaak ook een verhoogd risico op nadelige effecten vanuit het oogpunt van diergezondheid en -welzijn. Daarnaast worden er vraagtekens gezet bij het aanpassen van eigenschappen die het bestaande systeem van geïndustrialiseerde landbouw, dat volgens sommigen onwenselijk is, verder faciliteren. Anderzijds bestaat de mogelijkheid om met behulp van genome editing diergezondheid en -welzijn te verbeteren.

3.2 Proefdieren

Voor wetenschappelijk onderzoek naar de effecten van onder meer medicijnen, chemicaliën en voedselveiligheid worden proefdieren gebruikt, evenals voor fundamenteel onderzoek naar de oorzaak en verloop van ziekten en aandoeningen. Om ziektemodellen te maken, werd in eerste instantie chemische en stralingsmutagenese toegepast. Tegenwoordig wordt genetische modificatie gebruikt om specifieke ziektemodellen voor humane aandoeningen te genereren voor onderzoek. In 2015 was 26,7% van de gebruikte proefdieren in Nederland genetisch gemodificeerd (in totaal 462.179 gg-dieren).¹¹⁸ De meeste van deze dieren zijn afkomstig van eigen fok (355.799 dieren), gevolgd door een fokinstelling (17.157 dieren) of andere herkomst (bijvoorbeeld van andere Europese of internationale onderzoeksinstituten). Wereldwijd zijn er verschillende gespecialiseerde laboratoria die gg-diermodellen genereren en op commerciële basis distribueren voor onderzoek.^t Ook in Nederland wordt hier gebruik van gemaakt.

3.2.1 Ziektemodellen voor complexe aandoeningen

Door ontwikkelingen in de technische mogelijkheden om het complete genoom van mensen in kaart te brengen, wordt van steeds meer complexe aandoeningen (veroorzaakt door mutaties in meerdere genen) bekend welke combinaties van genen hierbij betrokken zijn. Omdat CRISPR de mogelijkheid biedt om tegelijkertijd meerdere mutaties in organismen aan te brengen, is het mogelijk deze complexe aandoeningen in dieren na te bootsen. Deze mutaties hoeven niet altijd in embryo's geïntroduceerd te worden, maar kunnen ook lokaal (in een dier) geïnduceerd worden. Zo wordt CRISPR-Cas ook toegepast bij weefsel-specifiek onderzoek, waar onder meer in de oncologie onderzoek naar gedaan wordt.¹¹⁹ Door tumorvorming te bevorderen in specifieke weefsels met behulp van genome editing, wordt een

t. Het Jackson Laboratory in de VS heeft bijvoorbeeld ruim 7.000 verschillende gg-muizen beschikbaar en distribueert jaarlijks ongeveer 3 miljoen muizen naar 50 landen wereldwijd.

patiënt-specifiek ziektebeeld nagebootst. Hierdoor kan gepersonaliseerd onderzoek uitgevoerd worden in proefdieren naar mogelijke behandelmethodes.

3.2.2 Snelheid ontwikkeling ziektemodellen

Tot voor kort was veel tijd en geld gemoeid in het ontwikkelen van een gg-proefdier. Om de gewenste eigenschappen tot uiting te brengen, waren relatief veel proefdieren nodig vanwege de onnauwkeurigheid en inefficiëntie van de gebruikte technieken. Vaak bleven modificaties beperkt tot een of enkele genen. Bij complexe aandoeningen waar meerdere genen bij betrokken zijn, of om stabiele homozygote lijnen te ontwikkelen, waren vaak lastige manipulaties in embryonale stamcellen en meerdere generaties nodig. Dieren met een relatief korte voortplantingscyclus (fruitvliegen, muizen) waren daarom bij uitstek geschikt voor dit soort experimenten.

Waar voorheen een jaar nodig was om een specifieke gg-muis te ontwikkelen (met uitloop van 6-18 maanden indien er geen embryonale stamcellen aanwezig zijn van de gewenste laboratoriumstam en teruggekruist moet worden), kan met CRISPR-Cas tussen de 6,5 en 8 maanden dezelfde muis ontwikkeld worden.¹²⁰ Behalve een besparing in kosten, levert dit ook een vermindering van proefdiergebruik op.¹²¹

Als de gewenste mutatie complexer is, bijvoorbeeld door vanwege de grootte van het fragment dat in het genoom ingebouwd moet worden, nemen de kosten- en tijdbesparing af. Echter, omdat CRISPR-Cas direct toegepast kan worden in het gewenste genoom (en er geen additionele terugkruisingen nodig zijn) heeft CRISPR-Cas ook bij complexe modificaties de voorkeur boven oudere methoden.

3.2.3 Verschuiving soorten gebruikte proefdieren

De keuze voor het soort proefdier dat gebruikt wordt in onderzoek, wordt bepaald door verschillende overwegingen. Hierbij speelt uiteraard de representativiteit van het dier als ziekte- of ontwikkelingsmodel voor de mens een belangrijke rol. Maar ook praktische overwegingen, zoals voortplantingssnelheid, levensduur, kosten en ruimte, kunnen een rol spelen, evenals ethische overwegingen. Voor proefdieronderzoek worden voornamelijk muizen, ratten, zebrafissen en konijnen ingezet. Andere diersoorten zijn vaak specifiek gekoppeld aan bepaald soort onderzoek, zoals varkens voor xenotransplantatie, honden voor toxicologisch onderzoek of apen voor levensbedreigende humane ziekten. Het genereren van specifieke ziektemodellen werd voor de introductie van CRISPR-Cas ook beperkt door de mate waarin genetische modificatie van proefdieren technisch mogelijk was (**zie introductie hoofdstuk 3**). CRISPR-Cas maakt het eenvoudiger om ziektemodellen te creëren in andere dan de gebruikelijke proefdiersoorten. Hierdoor kan het soort proefdier dat in onderzoek wordt gebruikt mogelijk gaan verschuiven en zou de bestaande discussie over het gebruik van proefdieren verder kunnen oplaaien (**zie kader B**).¹²²

Het gebruik van apen als proefdieren wordt in sommige onderzoeksvelden verkozen boven ratten of muizen. Met name in de neurowetenschappen wordt de voorkeur gegeven aan

apen als proefdier, niet alleen vanwege hun genetische verwantschap aan mensen, maar ook vanwege de overeenkomsten in gedrag bij geïntroduceerde aandoeningen (zoals autisme, alzheimer, schizofrenie).^{123,124} Genetische modificatie bij apen vóór CRISPR-Cas was niet onmogelijk (de eerste transgene aap werd in 2001 geboren), maar door beperkingen in de techniek evenals ethische bezwaren verliepen de ontwikkelingen in dit veld zeer langzaam.¹²⁵

Inmiddels zijn met genome editing technieken verschillende apensoorten succesvol gemoedificeerd. In China en Japan zijn al verschillende gg-Java en resusapen gecreëerd, onder andere om mutaties aan te brengen die bij mensen gerelateerd zijn aan autisme, en die bij apen ook gedrag kunnen introduceren dat kenmerkend is voor autisme bij mensen.^{126,127,128} Sommigen verwachten dat de komst van CRISPR-Cas het gebruik van apen voor onderzoek zal doen toenemen. In China zouden onderzoekscentra opgericht worden waar grote groepen primaten gegenereerd worden voor onderzoek.¹²⁹

Anderzijds kan genome editing soms ook leiden tot verminderd gebruik van apen als proefier. Een voorbeeld hiervan zijn gg-muizen waarin het humane gen voor de poliovirus-receptor is ingebouwd ten behoeve van poliovirusonderzoek. Hierdoor hoefde dit onderzoek niet meer bij apen plaats te vinden.

Hoewel CRISPR-Cas genetische modificatie bij apen makkelijker maakt, staat deze toepassing nog in de kinderschoenen.¹¹⁹ Hindernissen zijn onder meer de beperkte beschikbaarheid van correcte genoomsequenties van apensoorten, de lange generatietijd, de kosten en de beperkte beschikbaarheid van apenembryo's. Een lange generatietijd is nadelig omdat kruisen soms nodig is om homozygote^u gg-apen te ontwikkelen. Dit zou voorkomen kunnen worden door een hogere CRISPR-Cas concentratie te gebruiken in apenembryo's, maar onderzoek wijst uit dat dit een nadelige invloed heeft op de ontwikkeling van het embryo.¹¹⁹

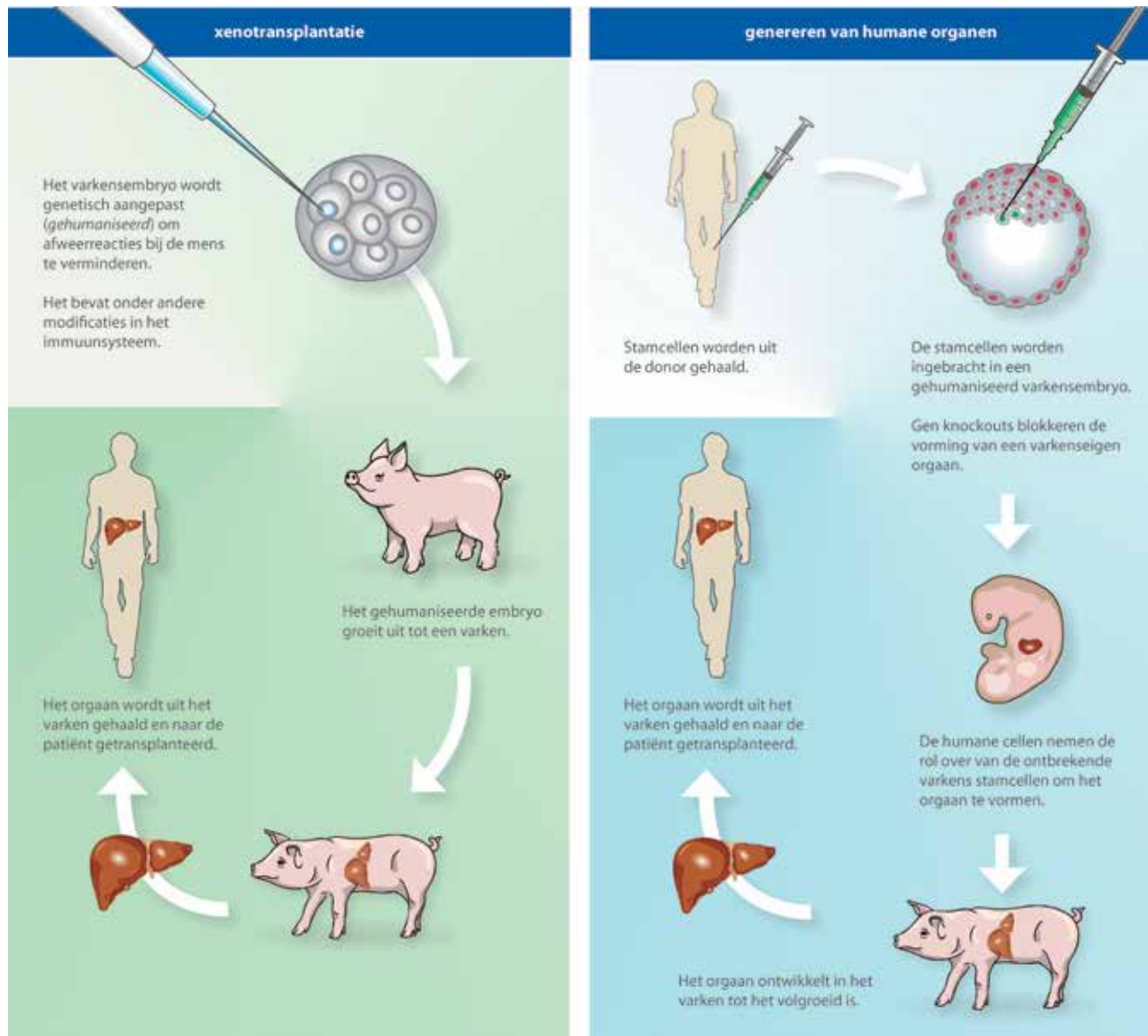
B. Maatschappelijke vraagstukken

In Nederland en Europa wordt er naar gestreefd om zo min mogelijk proefdieren te gebruiken. Er lopen allerlei initiatieven om alternatieven te ontwikkelen en het aantal proefdieren te verminderen. Uit de huidige wet- en regelgeving voor proefdieren blijkt echter ook dat het gebruik van proefdieren aanvaard wordt als een noodzakelijk kwaad voor onderzoek waarvoor geen alternatieven beschikbaar zijn.

Dit neemt niet weg dat proefdiergebruik omstreden is en er groeperingen zijn die zich er fel tegen verzetten. Genome editing faciliteert het gebruik van gg-proefdieren en het gebruik van andere diersoorten als proefdier. Dit kan aanleiding zijn voor het intensiveren van het maatschappelijk debat over proefdieren. Zowel in Nederland als in Europa wordt opnieuw gediscussieerd over de noodzakelijkheid van het gebruik van apen als proefdier.^{130,131} Tegelijkertijd lijken andere landen, zoals China, de mogelijkheden van genome editing voor het genereren van gg-apen als proefdier aan te grijp-

u. Homozygoot: het gewenste gen is op beide chromosomen aanwezig i.t.t. heterozygoot waarbij twee verschillende variaties aanwezig zijn.

pen voor nieuw onderzoek. Het gebruik maken van de kennis en producten die voortkomen uit buitenlands onderzoek dat hier niet is toegestaan, kan gezien worden als een vorm van *moral freeriding*.



Figuur 7: De twee meest onderzochte methoden om organen te verkrijgen voor xenotransplantatie: gehumaniseerde dierlijke organen en het genereren van humane organen in dieren.

3.3 Xenotransplantatie en chimere dieren voor orgaantransplantatie

De meest voorkomende toepassing van gg-dieren betreft vooralsnog het gebruik als proefdier of ziektemodel voor voornamelijk medisch onderzoek. Op medisch gebied worden echter ook andere toepassingen beoogd met gg-dieren. Er wordt onderzoek gedaan bij dieren om de productie van organen en weefsels voor orgaantransplantatie mogelijk te maken. In dit vakgebied zijn globaal twee methoden te onderscheiden: het transplanteren van dierlijke organen naar mensen (xenotransplantatie) en het genereren van humane organen in dieren (chimeren) om deze vervolgens naar een patiënt te transplanteren (zie figuur 7).

In het verleden zijn verschillende experimenten gedaan met xenotransplantatie van dieren naar mensen (zie kader **Experimenten met xenotransplantatie**). Overigens is toepassing van xenotransplantatie in Nederland bij wet verboden zolang de veiligheid niet voldoende kan worden gegarandeerd (zie hoofdstuk 4).

Experimenten met xenotransplantatie

In het kader van wetenschappelijk onderzoek zijn in het verleden verschillende xenotransplantaties uitgevoerd van varkens naar apen en zelfs van apen naar mensen. In 1963 en 1964 kregen zes Amerikaanse nierpatiënten chimpanseeneren getransplanteerd. Dit was niet succesvol. In 1984 kreeg een Amerikaanse baby in afwachting van een menselijk donorhart, het hart van een baviaan. Het kindje overleed 21 dagen na de transplantatie aan hartfalen veroorzaakt door afstotingsverschijnselen. Een menselijk donorhart werd niet op tijd gevonden.¹³² Ook een 35-jarige Amerikaan die in 1992 een bavarianelever kreeg getransplanteerd, overleed na twee problematische maanden in een ziekenhuisbed. In de jaren negentig werd een nieuwe techniek ontwikkeld. Varkens konden zodanig genetisch gemodificeerd worden dat hun organen minder afweerreacties bij de mens zouden opwekken.¹³³ Hiermee is beperkt succes geboekt; onder andere hart, nieren, hoornvliezen en lever zijn getransplanteerd naar apen die tot negenhonderd dagen (onder immunosuppressie) overleefden.¹³⁴ Daadwerkelijke toepassing in mensen lijkt echter nog ver weg.

3.3.1 Xenotransplantatie

In de periode van 2012 tot en met 2016 staan jaarlijks gemiddeld 1100 patiënten op de wachtlijst voor orgaantransplantatie in Nederland. In 2016 hebben er 689 orgaantransplantaties (postmortaal, uit overleden donoren) plaatsgevonden. Ondanks dat het aantal levende orgaandonoren toeneemt, is er een blijvend tekort aan donoren.¹³⁵ Aan xenotransplantatie wordt al lange tijd gewerkt als mogelijke oplossing voor het tekort aan orgaandonoren. Voor xenotransplantatie-onderzoek worden veelal varkens gebruikt, omdat de grootte van de organen van varkens vergelijkbaar is met die van de mens, en omdat varkens zich relatief snel kunnen voortplanten en veel nakomelingen krijgen.¹³⁶ Er zijn echter twee factoren die xenotransplantatie bemoeilijken: de sterke afweerreactie op organen van een andere diersoort en de mogelijk verhoogde kans op zoönose (overdracht van virussen van dier naar mens). Omdat varkens minder verwant zijn aan de mens dan apen, wordt de kans op overdracht van pathogenen naar de mens bij varkens kleiner geacht dan bij apen, maar deze kan nog steeds niet uitgesloten worden.

Van genome editing wordt gesteld dat dit kan bijdragen aan het oplossen van deze problemen en de efficiëntie van xenotransplantatie kan verhogen.^{137,138,139} Er is de laatste jaren een hernieuwde interesse in het genetisch modificeren van varkens waardoor hun organen na transplantatie een verminderde immuunreactie opwekken.^{140,141} Er zijn wetenschappelijke studies uitgevoerd naar afweerreacties op weefsels of cellen van gg-varkens.^{142,143} Ook is aangetoond dat met behulp van CRISPR-Cas9 (proto)virussen die geïntegreerd zijn in het DNA van het varken (en dus mogelijk overgedragen kunnen worden naar de mens bij transplantatie) geïnactiveerd of verwijderd worden, waardoor de kans op overdracht kleiner wordt.¹⁴⁴

Voor de behandeling van type 1 diabetes wordt naast insuline-injecties ook transplantatie van de eilandjes van Langerhans^v als behandelmethode aangeboden. Omdat de eilandjes niet bij leven gedoneerd kunnen worden, geldt ook hier een donortekort. Recent is gebleken dat eilandjes uit varkens een alternatief kunnen bieden. Echter de insuline die door varkenseilandjes geproduceerd wordt, verschilt van humane insuline door één afwijkend aminozuur, waardoor varkensinsuline een afweerreactie bij mensen op zou kunnen wekken. Onderzoekers zijn erin geslaagd om met behulp van genome editing een varken te ontwikkelen dat de humane variant van insuline tot expressie brengt.¹⁴⁵

Er zijn (opnieuw) hoge verwachtingen van deze toepassingen.¹⁴⁶ In november 2017 investeerde het bedrijf United Therapeutics vierentwintig miljoen euro in de Universiteit van Maryland voor onderzoek naar transplantatie van varkensorganen. United Therapeutics werkt aan het ‘menselijker’ maken van varkens, zodat de organen tot minder afstotingsreacties leiden. Het bedrijf werkt ook samen met een van de grootste varkensslachterijen ter wereld, Smithfield Foods. Dat gaat speciale stallen bouwen voor gemodificeerde varkens die organen moeten gaan leveren.¹⁴⁷

3.3.2 Chimere dieren voor orgaan- of weefseltransplantaties

Een relatief nieuwe ontwikkeling is het laten groeien van menselijke organen in dieren. Het combineren van cellen van verschillende diersoorten of dieren en mensen betreft geen genetische modificatie, omdat het genetische materiaal van de organismen niet wordt veranderd. Maar om immuunreacties tegen de ‘vreemde’ cellen te voorkomen, worden wel vaak ‘gehumaniseerde’ gg-dieren gebruikt.

Veel onderzoek is gedaan naar de conversie van gedifferentieerde cellen naar pluripotente cellen. Een pluripotente cel kan zich namelijk ontwikkelen tot elk celtype dat betrokken is bij de ontwikkeling van een organisme. Onderzoekers in Amerika hebben in 2015 het concept xeno-pluripotentie ontwikkeld, waarbij pluripotente stamcellen van één diersoort in staat zijn om zich aan de embryonale ontwikkeling van een andere diersoort aan te passen.

Met dit concept is het mogelijk om chimere dieren (dieren die naast hun eigen cellen ook cellen, weefsels of organen van een ander dier in hun lichaam hebben) te ontwikkelen.¹⁴⁸

v. Gespecialiseerde cellen in de alvleesklier die insuline aanmaken.

Hierdoor zou het in de toekomst mogelijk kunnen worden om met de cellen afkomstig van een patiënt bijvoorbeeld een chimeer varken te creëren waarin de genen voor de aanleg van het varkens eigen orgaan uitgeschakeld zijn, en waarin met behulp van menselijke pluripotente stamcellen het gewenste menselijke orgaan kan groeien.¹⁴⁹ Het uitschakelen van de ontwikkeling van een specifiek orgaan is relatief gemakkelijk, maar het is nog erg lastig om ervoor te zorgen dat pluripotente stamcellen van een andere diersoort deze rol gaan overnemen.¹⁵⁰

Zo hebben onderzoekers recent een rat-muis chimeer ontwikkeld door pluripotente stamcellen afkomstig van een rat in te brengen in een muizenembryo (blastocyste^w stadium) waarna ze onderdeel werden van de *inner cell mass* (ICM) waar het embryo uit gevormd wordt.¹⁵¹ De stamcellen van de rat hebben bijgedragen aan de ontwikkeling van de galblaas in de muis, een orgaan dat niet bij ratten voorkomt. Blijkbaar kunnen de stamcellen van de rat in de muis gestimuleerd worden om specifieke cellen voor de galblaas te vormen, die tijdens de ontwikkeling in de rat normaliter onderdrukt worden. De meeste rat-muis chimereën hebben het volwassen stadium kunnen bereiken en een enkele chimeer heeft twee jaar geleefd (de gemiddelde maximale leeftijd van een muis). Pluripotente stamcellen afkomstig van muizen of ratten blijken echter tot op heden niet te kunnen groeien in een varkensembryo.

Onderzoekers hebben humane pluripotente stamcellen ingebracht in de *Inner Cell Mass* van een pre-implantatie blastocyste van een varken en een koe om te achterhalen of de humane cellen kunnen bijdragen aan de ontwikkeling van het dier. Uit de resultaten bleek dat, met variabele efficiëntie, de humane pluripotente stamcellen konden overleven en integreren in de varkens- of koeienblastocyste. Hoewel deze techniek vooralsnog inefficiënt is (slechts 1 op de 100.000 cellen in het mens-varken chimeer was afkomstig van de mens)¹⁵², biedt het hoop voor orgaantransplantatie en regeneratieve therapieën in de toekomst.^{148,153} Japanse onderzoekers rapporteerden onlangs de resultaten van een onderzoek waarbij met humane stamcellen een humane pancreas werd ontwikkeld in een varken.¹⁵⁴

Naast onderzoek gericht op orgaantransplantatie, worden chimere dieren gecreëerd voor fundamenteel onderzoek naar de ontwikkeling van ziekten en aandoeningen. In een onlangs verschenen artikel, melden onderzoekers het succesvol plaatsen van humane organoids^x van hersenen in een muizenbrein. Hoewel men eerder dacht dat het brein te complex was om met exogene stamcellen functionele verbindingen aan te gaan, bleken de humane hersencellen zich verder te ontwikkelen in de muis.^{155,156} Het onderzoek is gericht op kennisontwikkeling over menselijke hersenaandoeningen. Het gebruik van dieren voor

w. Onderdeel van de embryonale ontwikkeling. De blastocyste is een holle structuur van cellen, waarin zich een klomp cellen bevindt die het embryo gaan vormen ('inner cell mass', ICM). De andere cellen zullen het extra-embryonaal weefsel (zoals de placenta en het vruchtvlies) gaan vormen.

x. Organoids zijn driedimensionele celculturen die representatief zijn voor organen. Het zijn in feite miniatur versies van organen en weefsels en bevatten alle cellen waaruit een daadwerkelijk orgaan ook bestaat.

de productie van organen ten behoeve van transplantatiedoeleinden roept naast technische ook ethische vragen op (**zie kader C**).

C. Maatschappelijke vraagstukken

Toepassingen waarbij dieren worden gebruikt als orgaandonor, betekenen een verregaande mate van instrumentalisering, die ten koste kan gaan van de intrinsieke waarde of telos van het dier (bijvoorbeeld het houden van een varken voor xenotransplantatie in een steriele laboratoriumomgeving). De klinische toepassing van xenotransplantatie is bij wet verboden zolang de veiligheid van deze toepassingen ter discussie staat. Mochten deze toepassingen in het buitenland beschikbaar komen, en wordt het verbod in Nederland niet heroverwogen, dan valt medisch toerisme niet uit te sluiten.

Bij het genereren van chimere dieren zijn er vragen over de grenzen tussen mens en dier, met name naar aanleiding van recente ontwikkelingen waarbij humaan hersenweefsel wordt gebruikt.¹⁵⁴ De vraag is of en wanneer sprake is van veranderd functioneren op het gebied van bewustzijnskenmerken en hoe dit gemeten kan worden. Wanneer is de muis nog een muis en wanneer is deze deels ‘mens’? Dit soort onderzoek roept belangrijke ethische vragen op, waarover een opstartende internationale discussie wordt gevoerd.¹⁵⁷ Ook in Nederland staat dit onderwerp op de politieke agenda. Naar aanleiding van een vraag in de Tweede Kamer naar kansrijke innovaties voor het terugdringen van het organentekort wordt de discussie over de morele aanvaardbaarheid van het kweken van menselijke organen in dieren geagendeerd.¹⁵⁸

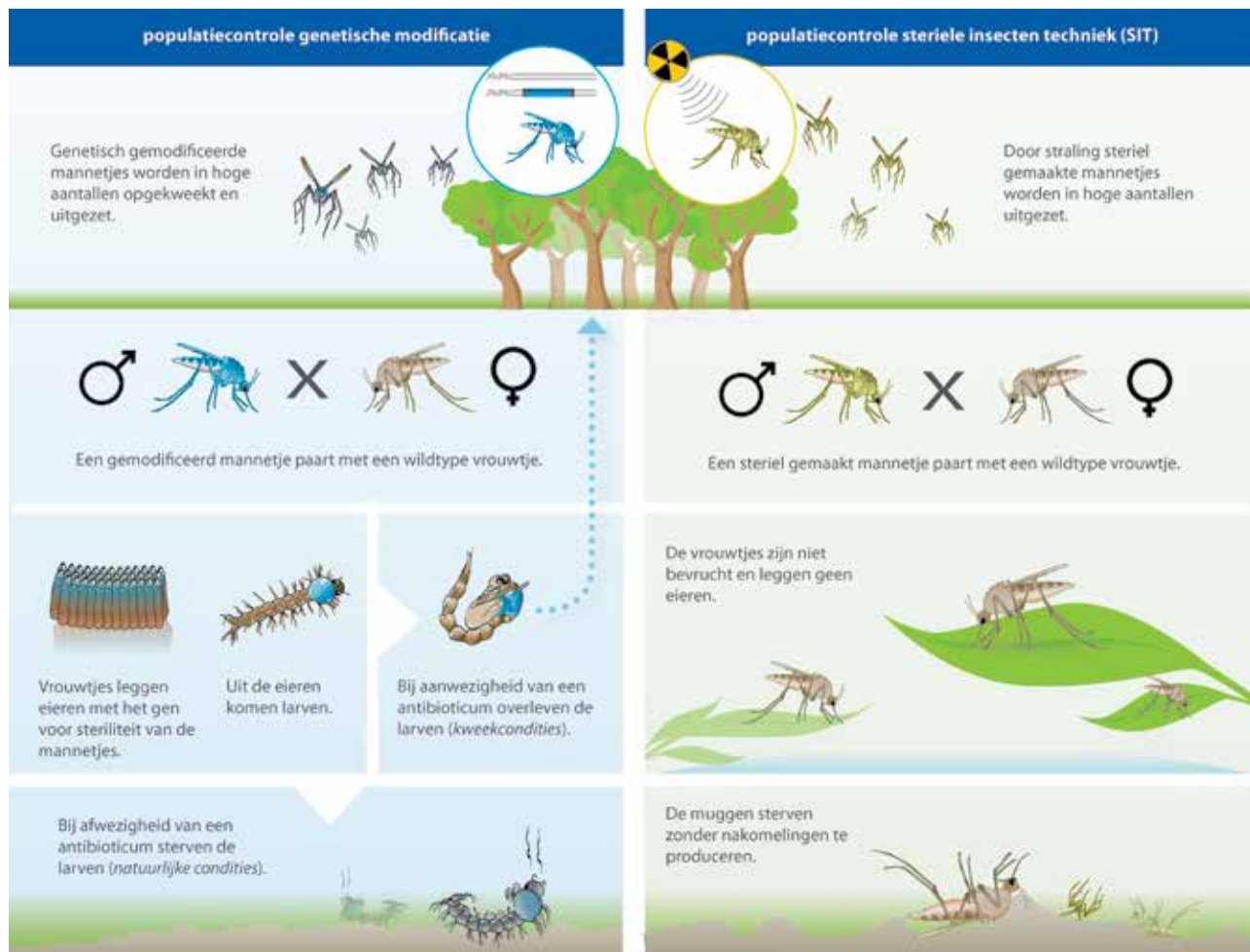
3.4 Ecological engineering: populatiecontrole

De opkomst van CRISPR-Cas heeft een nieuwe stimulans gegeven aan toepassingen van genetische modificatie op populatieniveau (ecological engineering). Hiermee wordt beoogd om de genetische samenstelling van dierpopulaties te veranderen, dierpopulaties te (her)introduceren, te beheersen of in het meest extreme geval uit te roeien. Dit zou een alternatief kunnen bieden voor de bestaande praktijk waar verspreiders van infectieziekten en invasieve exoten bestreden worden door bejaging, vallen en gif.^{159,160} Een minder gebruikte methode is het introduceren van een virus of een pathogeen micro-organisme om een invasieve populatie te bestrijden.^{161,162} Toepassingen van genome editing voor populatiecontrole worden beoogd in (plaag)insecten of ziekteverspreiders, zoals muggen en knaagdieren.

3.4.1 Bestrijding infectieziekten

Er zijn verschillende methoden ontwikkeld om infectieziekten te bestrijden, bijvoorbeeld door transgene muggen te creëren die alleen onder bepaalde condities overleven (**zie kader Genetisch gemodificeerde Aedes aegypti**). Het bestrijden van ziekten en plagen door steriele insecten in het milieu te brengen kan zowel met genetische modificatie als door straling. De steriele insecten techniek (SIT)^y met behulp van straling wordt al geruime tijd toegepast (**zie figuur 8**).

y. De steriele insecten techniek (SIT) is een techniek waarbij mannelijke insecten door middel van straling steriel worden gemaakt en vervolgens worden vrijgelaten in het milieu. Doordat paren met de steriele mannetjes geen nakomelingen oplevert, wordt de populatie teruggebracht en daarmee ook de ziekte (of plaag). Het voordeel van SIT is dat er geen chemische bestrijdingsmiddelen in het milieu worden gebracht.



Figuur 8: Bestrijdingsmethoden van ziekten of plagen met behulp van steriele insecten.

Genetisch gemodificeerde *Aedes aegypti*

Dengue, ook wel knokkelkoorts genoemd, is een virale ziekte die overgebracht wordt door vrouwelijke muggen. Deze muggensoorten zijn ook verantwoordelijk voor infectie met chikungunya, gele koorts en Zika virussen.¹⁶³ De meeste infecties met het denguevirus verlopen asymptomatisch (40-80%).¹⁶⁴ Milde symptomen die kunnen ontstaan, zijn onder andere koorts, hoofd-, spier- en gewrichtspijn, misselijkheid en braken, en houden vaak niet langer dan een week aan. Bij ernstigere vormen (5% van de geïnfecteerde mensen) van dengue kunnen dengue hemorragische koorts (DHF) en dengue shock syndroom (DSS) ontstaan. Naast de milde symptomen kunnen ook bloedingen optreden, onderhuids of inwendig, die tot orgaanfalen en hypovolumische shock (vermindering van het circulerend bloedvolume) kunnen leiden. Voor dengue bestaan geen specifieke behandelingen. Dengue komt voor in meer dan honderd landen in Amerika, Zuid-Oost Azië, het Oostelijk Middellandse Zeegebied en het westelijke deel van de Stille Oceaan. Wereldwijd worden er

gemiddeld 500.000 mensen opgenomen met ernstige symptomen, waarvan 2,5% overlijdt.¹⁶⁴ Er zijn momenteel vaccins in ontwikkeling, en een enkel vaccin is toegelaten voor endemische landen.¹⁶³ Het toegelaten vaccin bleek echter een verhoogde kans op ernstige dengue te geven in gevaccineerde personen die nog niet eerder met dengue in aanraking waren gekomen. Voor mensen die seropositief waren voor dengue was het vaccin wel effectief.¹⁶⁵

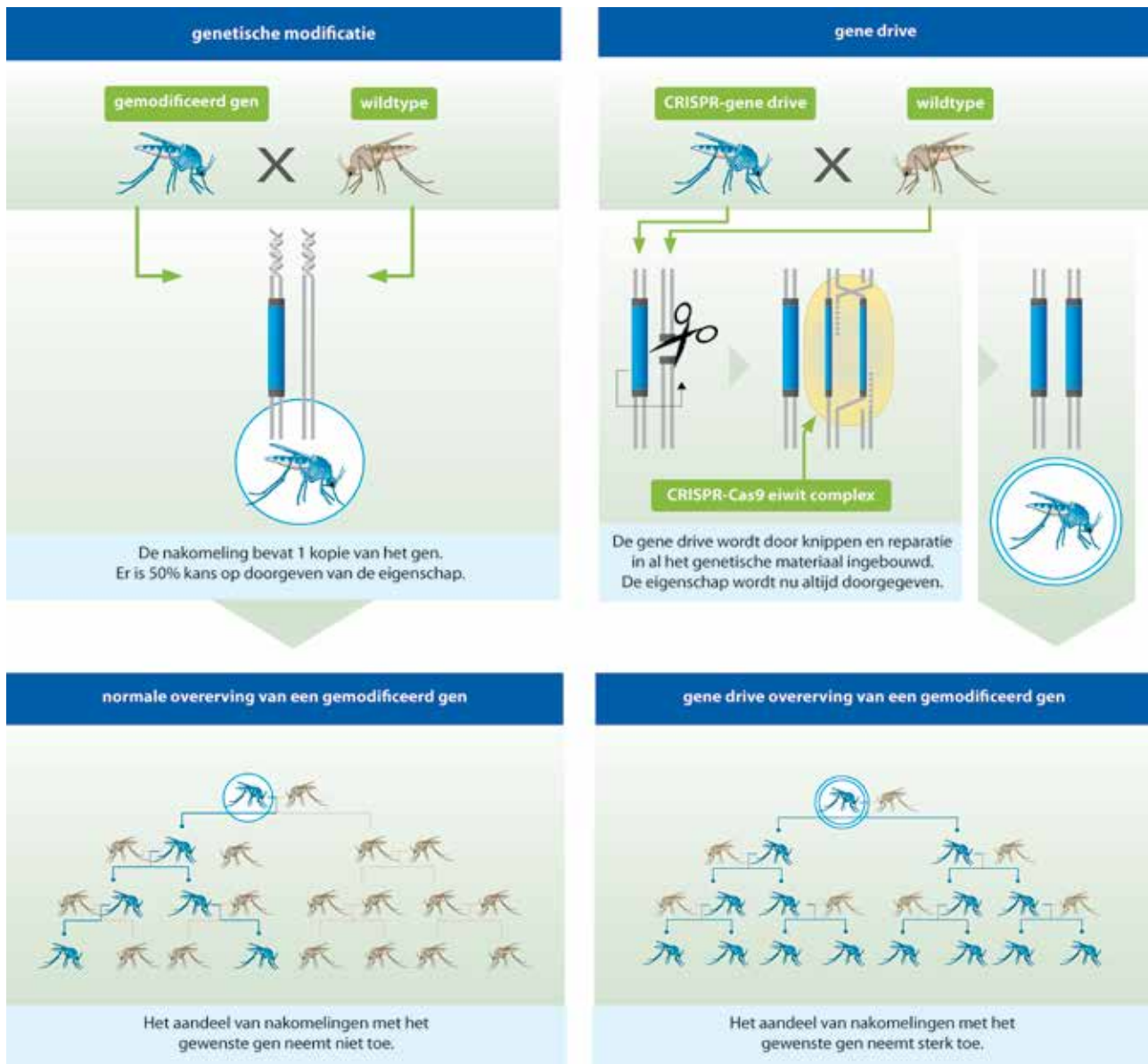
Een Engels bedrijf heeft een mug ontwikkeld waarin een zogenaamd zelflimiterend gen is ingebracht, dat ervoor zorgt dat de mug het volwassen stadium niet bereikt. Het gen zorgt ervoor dat er een eiwit aangemaakt wordt, dat de expressie van andere belangrijke genen remt, waardoor de mug sterft. Alleen wanneer de dieren opgroeien in aanwezigheid van een bepaald antibioticum wordt de werking van het zelflimiterende gen tegengehouden. Hierdoor kunnen de muggen zich in een gecontroleerde omgeving ontwikkelen en reproduceren, maar in het wild zullen de nakomelingen van de muggen door afwezigheid van het antibioticum het volwassen stadium niet bereiken (zie **figuur 8**).¹⁶⁶ In 2014 heeft het bedrijf toestemming gekregen om de mug te introduceren in Brazilië, Panama en de Kaaimaneilanden. In Panama is de mug uitgezet in een gebied van 10 hectare en heeft volgens het bedrijf binnen zes maanden de populatie van wilde muggen gereduceerd met 93%. Ook in Brazilië en de Kaaimaneilanden zou de uitzetting van de muggen geresulteerd hebben in een reductie van 82% van wilde muggenlarven. Het bedrijf is voornemens om ook in Florida veldproeven uit te voeren. In 2016 heeft de Amerikaanse Food and Drug Administration (FDA) aangekondigd dat deze experimenten geen risico's voor de gezondheid en het milieu met zich meebrengen.¹⁶⁷ Het RIVM heeft in 2017 een rapport uitgebracht over de technische evaluatie van introductie van deze gg-muggen op het eiland Saba en concludeerde dat het risico voor de volksgezondheid en het milieu verwaarloosbaar klein is.¹⁶⁸

Tot nu toe was de ontwikkeling van gg-insecten voor infectieziektenbestrijding vooral gericht op een zelflimiterende strategie: er wordt een grote hoeveelheid steriele insecten in het milieu gebracht die de populatie tijdelijk onderdrukken. Dit effect neemt af wanneer de in het milieu vrijgelaten insecten doodgaan omdat het effect niet wordt doorgegeven aan nakomelingen. Bij geïsoleerde populaties (bijvoorbeeld op eilanden) is het met de steriele mannetjes techniek overigens mogelijk om de populatie uit te roeien.

Een specifieke toepassing van CRISPR-Cas kan de efficiëntie van de toepassing van gg-insecten verhogen. Met een techniek genaamd '*gene drive*' wordt de overerving van bepaalde eigenschappen vergroot waardoor in principe alle nakomelingen de ingebrachte eigenschap heeft. Hierdoor zou in theorie met het uitzetten van slechts enkele insecten het ingebrachte gen of eigenschap zich binnen korte tijd kunnen verspreiden in de populatie.

Gene drives zijn niet nieuw en komen ook in de natuur voor. Voorbeelden van *gene drives* zijn *Medea*, *homing based drives* en *sex-linked meiotic drives*.^{169,170} Er is in de loop der jaren veel onderzoek verricht om *gene drives* in te zetten om populaties te beheersen, echter zonder veel succes. De verwachting bij sommige onderzoekers is dat met behulp van CRISPR-Cas wel efficiënte en bruikbare *gene drives* ontwikkeld kunnen worden. Door CRISPR-Cas complexen in het genoom van een organisme in te bouwen in een gen dat uitgeschakeld moet worden of op een andere specifieke doellocatie in het genoom in combinatie met een gewenst transgen, zal de gewenste verandering op elk chromosoom in elke kopie van het betreffende gen of genoomlocatie worden doorgevoerd. Elke geslachtscel zal de wijziging daarom bevatten en na voorplanting zullen alle genkopiën en dus geslachtscellen in de nakomeling ook de

wijziging bevatten (zie **figuur 9**). Op deze wijze kan in theorie een eigenschap zich snel door een populatie verspreiden.¹⁷¹



Figuur 9: Werkingsmechanisme van gene drives in muggen: door genetische aanpassingen wordt een bepaalde eigenschap zeer efficiënt doorgegeven in opeenvolgende generaties.

Toepassing van *gene drives* zijn mede afhankelijk van de generatietijd van het organisme. Een snelle verspreiding van een eigenschap door een populatie is afhankelijk van het aantal nakomelingen en de generatieduur. Bovendien zijn *gene drives* alleen toepasbaar bij organismen met sexuele voortplanting. Gezien deze voorwaarden wordt voornamelijk gewerkt aan *gene drives* bij insecten en knaagdieren. Hierbij moet opgemerkt worden dat *gene drives* alleen effectief zijn indien sexuele voortplanting plaatsvindt tussen alle dieren in een populatie. Als paring alleen plaatsvindt in een kolonie of familie, zoals bij sommige knaagdieren, zal verspreiding van de *gene drive* beperkt blijven tot die groep. Ook de ingebrachte eigenschap is van belang. Een voor het individu nadelige eigenschap zal zich minder goed verspreiden, omdat deze individuen een verminderd voortplantingssucces hebben. Modelmatige berekeningen laten zien dat genen met nadelige eigenschappen daardoor ondanks de *gene drive* uit de populatie zullen verdwijnen.¹⁷² Alleen neutrale eigenschappen verspreiden zich efficiënt. Om populaties terug te dringen richt het onderzoek zich daarom hoofdzakelijk op sexe-verandering bij nakomelingen. Door te induceren dat alleen mannelijke en geen vrouwelijke nakomelingen worden geboren, kan in theorie een populatie teruggedrongen of zelfs uitgeroeid worden.^{173,174,175}

Daarnaast blijkt resistentie-ontwikkeling tegen *gene drives* in insecten een belemmering voor succesvolle toepassing. In kooi-experimenten met muggen bleek dat na een initiële snelle verspreiding, de aanwezigheid van de *gene drive* in de populatie al na 6 generaties bij elke volgende generatie verder af te nemen door resistentieontwikkeling.¹⁷⁶ Om resistentie te overkomen richten onderzoekers zich nu op het inbouwen van meerdere *gene drives* tegelijk. Of dit een succesvolle benadering is, zal nog moeten blijken.

Onderzoek naar *gene drives* voor de bestrijding van ziektes richt zich vooral op malaria. Uitroeijing van de muggensoort die de ziekte overbrengt, zou ook de ziekte uitroeien. Daarnaast blijkt het mogelijk om de overdracht (transmissie) van de malariaparasiet naar de mens in de mug te blokkeren.^{177,178} Ook voor andere ziekten die door muggen verspreid worden, zouden *gene drives* mogelijkheden kunnen bieden, zoals Zika of dengue.^{171,179} Infectieziekten die via andere organismen overgebracht worden, zoals teken (ziekte van Lyme) en aquatische slakken (schistosomiasis, of bilharzia), kunnen ook mogelijk met genome editing of *gene drive* technieken aangepakt worden.¹⁸⁰

Er zijn nog diverse vragen over de consequenties van *gene drives*, bijvoorbeeld of en hoe de malaria-parasiet zich verder zal ontwikkelen na de introductie van *gene drives* of de vraag of er andere parasieten ontstaan die deze niche invullen. Het verwijderen van een soort, al dan niet invasief en al dan niet met behulp van biotechnologie, uit een ecosysteem, kan consequenties hebben voor andere soorten. Zo bleek dat uitroeijing van een bepaalde ratensoort met behulp van gif als onbedoeld gunstig neveneffect had dat ook de tijgermug verdwenen was op Palmyra Atoll.¹⁸¹ Op een Caribisch eiland waar invasieve geiten en ratten werden uitgeroeid, ondergaan een aantal salamandersoorten een soort versnelde evolutie.¹⁸²

3.4.2 Bestrijding invasieve soorten

Gene drives kunnen ook functioneren als *biocontrol* voor invasieve exoten^z. De introductie van niet inheemse organismen (planten, dieren), ook wel exoten genoemd, kan een negatief effect hebben op inheemse soorten. In dat geval spreken we van een invasieve exoot. Bekende exoten die problemen veroorzaken zijn konijnen in Australië, de reuzenpad (oorspronkelijk uit Midden en Zuid-Amerika) in Azië en Australië, de koraalduivel (oorspronkelijk uit de Indische en Grote Oceaan afkomstig) in het Caribisch gebied, de python (oorspronkelijk uit Afrika, Azië en Australië afkomstig) in Florida, de beverrat (oorspronkelijk uit Zuid-Amerika afkomstig) in Nederland en de tijgermug (oorspronkelijk uit Azië afkomstig) die in Europa regelmatig aangetroffen wordt.

In extreme gevallen kunnen exoten bijdragen aan het uitsterven van inheemse soorten. Ook kunnen invasieve soorten een bedreiging vormen voor de economie (denk hierbij aan schade aan dijken door het graafwerk van beverratten¹⁸³ en de kosten voor de bestrijding van invasieve exoten) en de menselijke gezondheid (bijvoorbeeld overdracht van ziekten door de tijgermug).^{aa} Naast de eerder genoemde vragen over de werkelijke effectiviteit van *gene drives* als oplossing voor het bestrijden van invasieve soorten en overbrengers van ziekten, brengen deze toepassingen ook maatschappelijke vraagstukken met zich mee (zie kader D).

D. Maatschappelijke vraagstukken

Het eventuele gebruik van *gene drives* in het milieu is controversieel. Enerzijds lijkt deze techniek grote potentie te hebben voor de effectieve bestrijding van infectieziekten en plagen die bestaande alternatieven overtreffen. Anderzijds zijn er ook twijfels en onzekerheden over de consequenties bij toepassing in complexe ecosystemen. Er worden vraagtekens geplaatst bij de beheersbaarheid en omkeerbaarheid van de toepassing.

Onderzoekers hebben kritische kanttekeningen geplaatst bij de mogelijke toepassing van *gene drives* voor de bestrijding van invasieve dieren. Zij stelden dat een succesvolle *gene drive* niet veel anders is dan een invasieve soort en daarmee een onacceptabel risico kan vormen.^{184,185} Door ontsnapping of opzettelijk ongeautoriseerd transport of introductie kunnen dieren met *gene drives* zich ongecontroleerd verspreiden. Op basis van modelberekeningen stellen de onderzoekers dat het uitzetten van slechts een handvol organismen met *gene drives* verstrekkende en zelfs wereldwijde gevolgen kan hebben.¹⁸⁶ Uit ander onderzoek blijkt resistentie tegen *gene drives* zich snel te ontwikkelen, waardoor verspreiding voorkomen wordt.^{187,188}

Hoe dan ook wordt onderzoek gedaan naar maatregelen om *gene drives* te controleren of terug te draaien, zoals de *reverse gene drive* en de *daisy drive*.¹⁷¹ De *daisy drive* werkt in stappen waardoor de *gene drive* langzaam uitdooft in de populatie. Hiermee kan voorkomen worden dat een *gene drive* een onbedoeld (wereldwijd) effect krijgt op een populatie.¹⁸⁴

z. Dieren of planten van soorten die niet van nature in Nederland voorkomen of voorkwamen en die door menselijk handelen terecht zijn gekomen in de Nederlandse natuur of dat in de nabije toekomst dreigen te doen (Wet Natuurbescherming).

aa. Verordening (EU) Nr. 1143/2014 van het Europees Parlement en de Raad van 22 oktober 2014 betreffende de preventie en beheersing van de introductie en verspreiding van invasieve uitheemse soorten. Publicatieblad van de Europese Unie 4.11.2014, L317/35.

3.5 Ecological engineering: bedreigde en uitgestorven diersoorten

Een andere toepassing van *ecological engineering* is het (her)introduceren of herstellen van bedreigde of uitgestorven diersoorten. Dit zijn nichetoeepassingen waar al langere tijd op kleine schaal aan gewerkt wordt. Genome editing technieken bieden nieuwe mogelijkheden voor dit onderzoeksgebied.

3.5.1 Herstel bedreigde diersoorten

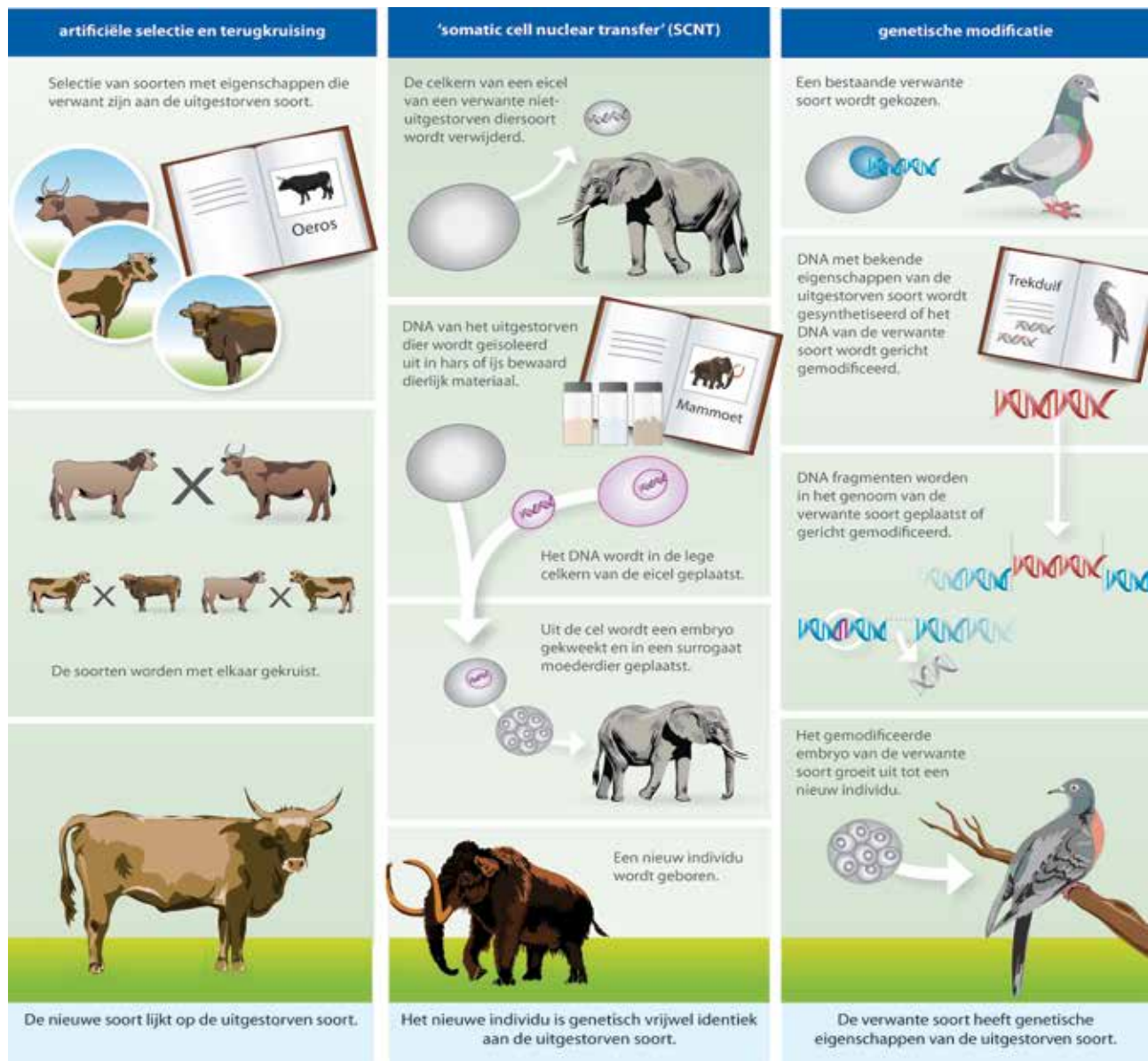
Wereldwijd worden diersoorten met uitsterven bedreigd. Meestal is de oorzaak van de bedreiging een menselijk factor; door jacht of verlies van leefgebied. Een andere bedreiging kan zijn dat een ziekte zich verspreidt door de populatie. Bij dieren die met uitsterven bedreigd zijn, is inteelt vaak een bijkomstig probleem. Doordat de genetische diversiteit te sterk afgenomen is, wordt de populatie kwetsbaar voor ziektes en steken genetische ziekten de kop op. Biotechnologie kan op verschillende manieren bijdragen aan het herstel en behoud van bedreigde diersoorten: biobanking (het opslaan van biologisch materiaal en genetische informatie), genomics (het in kaart brengen van genetische informatie en variatie binnen soorten), biosynthese (als mogelijke alternatieven voor de productie van materialen die worden geoogst van bedreigde diersoorten), *assisted reproductive technologies* (ART) en genome editing of *gene drives*.¹⁸⁹ Het verwijderen van genetische oorzaken voor ziekten of introduceren van meer genetische variatie, al dan niet met behulp van gene drives, worden genoemd als mogelijkheden voor het behouden of herstellen van bedreigde soorten.^{175,190}

3.5.2 De-extinctie

Ook uitgestorven dieren zoals de mammoet of de trekduif (*passenger pigeon*), kunnen mogelijk met de opkomst van technieken zoals CRISPR-Cas weer tot leven gewekt worden (de-extinctie). De-extinctie kan globaal bewerkstelligd worden met drie methoden; artificiële selectie en terugkruising, *somatic cell nuclear transfer* (SCNT) en genetische modificatie (zie figuur 10).

Artificiële selectie is een techniek in de fokkerij waarbij soorten die verwant zijn aan de uitgestorven diersoort met elkaar gekruist worden om een dier te ontwikkelen dat op de uitgestorven soort lijkt. Terugkruisen is een vorm van artificiële selectie, waarbij er binnen een soort geselecteerd wordt op eigenschappen die overeenkomen met de eigenschappen van de uitgestorven diersoort. Door hierop te selecteren zal er een soort ontstaan die zoveel mogelijk uiterlijke kenmerken heeft van de uitgestorven soort. Artificiële selectie en terugkruising werden al in 1930 toegepast in Nederland om het oerrund terug te fokken.¹⁹¹ De methode wordt nu in Zuid-Afrika toegepast om de Quagga, een zebra variëteit die rond 1883 is uitgestorven, te herintroduceren.¹⁹² Ook wordt er sinds 2009 gewerkt aan het terugbrengen van de oeros (auroch) die sinds 1627 uitgestorven is in Europa.¹⁹³ Door terugkruising met verschillende soorten runderen hopen onderzoekers een oeros te creëren die zich weer in de wilde natuur kan vestigen.¹⁹⁴

Eerder richtte de-extinctie onderzoek zich op het verkrijgen en kloneren van DNA van uitgestorven diersoorten (bijv. uit fossielen, hars of gletsjerijs) met behulp van SCNT.



Figuur 10: Verschillende strategieën om uitgestorven diersoorten terug te brengen: artificiële selectie en terugkruising, SCNT en genetische modificatie.

Hiervoor wordt een eikel van een verwante niet-uitgestorven diersoort geoogst, waarbij het DNA uit de celkern wordt verwijderd en vervangen door DNA van het uitgestorven

dier. Het verkrijgen van volledig en onbeschadigd DNA is echter vaak niet mogelijk. In dat geval kan genetische modificatie of genome editing mogelijkheden bieden. Hierbij worden fragmenten van het DNA van een uitgestorven soort in het genoom van een bestaande soort geplaatst. Of er wordt met behulp van genome editing technieken gerichte aanpassingen in het genetische materiaal van de verwante soort aangebracht, zodat de sequentie eender wordt aan die van de uitgestorven soort. Deze technieken zijn dus gericht op het terug-evolueren van bestaande verwante soorten naar een uitgestorven soort.

In Amerika zijn enkele onderzoeksgroepen bezig met de-extinctie van de trekduif, de mammoet en de tasmaanse tijger met behulp van genome editing.^{195,196} De wolharige mammoet leefde zo'n 600.000 jaar geleden en was ongeveer even groot als de hedendaagse Aziatische olifant. Hij stierf waarschijnlijk uit door klimaatverandering en verdwijning van zijn leefgebied. De onderzoeksgroep is erin geslaagd om in celculturen van hedendaagse olifanten met behulp van CRISPR-Cas het DNA dusdanig te modificeren dat de cellen verschillende eigenschappen tot expressie brengen die mammoeten onderscheiden van olifanten; het produceren van meer hemoglobine (eiwit waarmee zuurstof door het lichaam vervoerd wordt), meer vetcellen, en langere haren om bestand te zijn tegen lagere temperaturen. Beoogd wordt hiermee uiteindelijk de olifant 'terug' te laten evolueren.

De trekduif kwam oorspronkelijk in groten getale in bosrijke gebieden voor in Noord-Amerika, maar stierf begin 1900 uit door jacht voor menselijke consumptie en ontbossing.¹⁹⁷ Hoewel er diverse exemplaren van de trekduif beschikbaar zijn in opgezette vorm in musea en instituten, is het DNA veelal gecontamineerd of beschadigd. Onderzoekers richten zich nu op het combineren van DNA-fragmenten van verschillende verwante soorten om een duif te creëren met zoveel mogelijk genetische eigenschappen van de trekduif.¹⁹⁸

Het daadwerkelijk terugbrengen van uitgestorven diersoorten of herintroduceren van bedreigde diersoorten lijkt nog ver weg. Bovendien worden deze toepassingen niet door iedereen als een wenselijke ontwikkeling gezien (**zie kader E**).

E. Maatschappelijke vraagstukken

Sommigen vrezen dat het terugbrengen van de trekduif ook nadelige gevolgen voor het ecosysteem kan hebben. Ook het terugbrengen van de mammoet wordt niet overal positief ontvangen. Sommigen vinden het bovendien niet gepast te praten over de-extinctie van een mammoet, terwijl in grote delen van Afrika de olifantenpopulaties sterk afnemen en natuurbeschermers strijden voor het behoud van deze dieren.¹⁹⁹ Ook is de vraag waar deze mammoet geïntroduceerd zou moeten worden, aangezien zijn ecologische niche en leefgebied niet meer bestaan door klimaatveranderingen. Daarnaast zijn er meer algemene vragen over de gevolgen en mogelijke risico's voor het ecosysteem bij het herintroduceren van uitgestorven diersoorten. Het herstellen van populaties van bedreigde diersoorten, al dan niet door hen genetisch aan te passen en weerbaarder te maken, lijkt in sommige gevallen een mogelijke oplossing te bieden voor met uitsterven bedreigde diersoorten. Het behoud van bedreigde dieren is echter niet voor iedereen vanzelfsprekend.²⁰⁰ Ook zien sommigen als risico dat de urgentie voor natuurbeheer en bescherming afneemt als er technische oplossingen voorhanden zijn die het uitsterven van diersoorten kunnen terugdraaien.

3.6 Deelconclusies

Huisdieren

- Het doel van de meeste toepassingen van genome editing bij landbouwhuisdieren (koeien, varkens, geiten, schapen en kippen) komt, contextueel gezien, in grote mate overeen met de huidige praktijk rondom veredeling van deze dieren. Ze zijn gericht op productieverhoging, ziekteresistentie en productkwaliteit. Het verschil is dat met genome editing het veredelingsproces voor één of enkele specifieke genen sneller kan verlopen. Klassieke veredeling is meestal gericht op het hele genoom waarbij geselecteerd wordt op genoomwijd verspreide genen betrokken bij bepaalde productiekenmerken.
- Sommige toepassingen van genome editing kunnen bijdragen aan een verbetering van dierenwelzijn. De introductie van ziekteresistentie bij dieren kan bijvoorbeeld gezien worden als een (relatieve) verbetering van dierenwelzijn binnen de bestaande praktijk. Echter, het modificeren op eigenschappen voor productieverhoging (bijvoorbeeld spiermassa) kan ook fysieke complicaties met zich meebrengen, ongeacht de gebruikte methode.
- De toepassing van genome editing bij landbouwhuisdieren voor productieverhoging, ziekteresistentie en productkwaliteit zet discussies over de wenselijkheid van de bestaande praktijk opnieuw op de agenda.
- Sommige toepassingen van genome editing zijn dusdanig subtiel dat ze niet of nauwelijks te onderscheiden zijn van mutaties die van nature ontstaan. Dit brengt zowel beleidsmatige (handhaving regelgeving) als maatschappelijke (keuzevrijheid) uitdagingen met zich mee.
- Verschillende toepassingen zijn theoretisch ook voor de Nederlandse veehouderij relevant (zoals productieverhoging en productkwaliteit) of zelfs urgent (zoals ziekteresistentie). Een aantal toepassingen van genome editing is nabij marktrijp. Echter, het introduceren van een nieuwe eigenschap in bestaande populaties (waarbij variatie en andere zorgvuldig geselecteerde eigenschappen behouden moeten worden) zal naar verwachting vanaf de eerste introductie minimaal 5 tot 10 jaar in beslag nemen.
- De markttoelating van genome editing bij dieren zelf is een onvoorspelbaar proces. In Europa zijn geen gg-dieren toegelaten tot de markt en in de VS nam de toelating van het eerste gg-dier voor voedseldoeleinden (de gg-zalm) bijna 20 jaar in beslag.

Proefdieren

- Genome editing technieken maken het eenvoudiger, sneller en goedkoper om specifieke en complexere ziektemodelen te maken in proefdieren voor onderzoek. Dit kan een belangrijke bijdrage leveren aan de voortgang van onderzoek en kennisontwikkeling.
- Het is de vraag of dit zal leiden tot:
 - een toename in het absolute aantal gg-proefdieren;
 - een toename in combinatie met een afname van niet-gg-proefdieren;
 - een verschuiving naar het gebruik van andere diersoorten als proefdier.
- In China lijkt het gebruik van apen als proefdier door genome editing opnieuw in de belangstelling te staan, terwijl men in Europa juist streeft naar het uitschakelen van onderzoek met apen. Over de noodzaak van het gebruik van apen als proefdiermodel lopen de meningen uiteen.
- Nederland kent enerzijds een strenge wetgeving voor biotechnologie bij dieren in Nederland. Anderzijds worden wel gg-dieren (als proefdier) en hun producten (bijvoorbeeld medicijnen) geïmporteerd. Internationale verschillen in wetgeving kunnen bijdragen aan zogeheten *moral freeriding*, wanneer in Nederland gebruik wordt gemaakt van producten, toepassingen of onderzoeksresultaten terwijl het onderzoek of de productie in Nederland niet toegestaan is.

Xenotransplantatie / chimere dieren voor orgaantransplantatie

- Genome editing voor de toepassing van xenotransplantatie biedt nieuwe mogelijkheden om een aantal technische problemen rondom immuunreacties en overdracht van dierziektes op te lossen. Daarnaast wordt er vooruitgang geboekt op het gebied van het produceren van menselijke organen in (chimere) dieren.
- Deze ontwikkelingen bevinden zich nog in een vroege experimentele fase. Klinische of commerciële toepassing is nog dusdanig ver weg dat hier geen termijn aan verbonden kan worden. Het kan niet worden uitgesloten dat deze toepassing er nooit zal komen.
- De klinische toepassing van xenotransplantatie is bij wet verboden zolang de veiligheid van deze toepassingen ter discussie staat. Mochten deze toepassingen in het buitenland beschikbaar komen, en wordt het verbod in Nederland niet heroverwogen, dan valt medisch toerisme niet uit te sluiten.

Ecological engineering: populatiecontrole

- *Gene drive* technieken lijken nieuwe mogelijkheden te bieden voor de bestrijding van infectieziekten, plagen en (invasieve) exoten.
- Deze techniek biedt in sommige gevallen, zoals bij het bestrijden van invasieve exoten, wellicht voordelen ten opzichte van bestaande alternatieven (gif, vallen) als het gaat om efficiëntie en dierenleed. Aan de andere kant zijn er zorgen over de mogelijk negatieve, onvoorziene of onomkeerbare gevolgen op populatie- en ecosysteemniveau. *Gene drives* vallen in Europa onder de ggo-regelgeving en worden beoordeeld op risico's voor mens en milieu.
- Eventuele milieueffecten kunnen echter grensoverschrijdend zijn. Dit kan problematisch zijn bij de bestrijding van invasieve exoten, die in andere landen zoals het land van herkomst niet ongewenst zijn. De reikwijdte van nationaal beleid is hiermee beperkt en vraagt om internationale afstemming.

Ecological engineering: de-extinctie

- Genome editing biedt (vooralsnog theoretische) mogelijkheden voor het herintroduceren van uitgestorven diersoorten. Het terugbrengen van uitgestorven diersoorten door middel van deze technieken is een niche toepassing in de vroege onderzoeksfase.
- Het herintroduceren of herstellen van bedreigde diersoorten zou wellicht eerder praktische toepassing kunnen vinden.
- Deze toepassingen zijn maatschappelijk niet onomstreden en worden door sommigen gezien als een verkeerde prioritering van onderzoeksgelden. De omkeerbaarheid van het uitsterven van diersoorten zou daarnaast een negatief effect kunnen hebben op de (ervaren) urgentie van natuurbescherming.

4. Wet- en regelgeving van (genetisch gemodificeerde) dieren

In dit hoofdstuk wordt een globaal overzicht geschetst van de wetten en regels die een rol spelen bij genetische modificatie van dieren. Het gaat zowel om specifieke regels ten aanzien van genetische modificatie als om algemene regelgeving die relevant is voor het gebruik van dieren voor verschillende toepassingsgebieden. Na een algemene schets van de EU regelgeving, ligt de focus van dit hoofdstuk op de Nederlandse wet- en regelgeving.

4.1 EU wet- en regelgeving

De regelgeving in Nederland is in belangrijke mate Europees bepaald. De Europese regelgeving betreffende genetische modificatie bestaat uit verschillende richtlijnen en verordeningen. Voor EU richtlijnen geldt dat de implementatie per EU-lidstaat enigszins kan verschillen omdat daarbij rekening gehouden kan worden met specifieke nationale voorkeuren en wetgeving. Europese verordeningen dienen rechtstreeks te worden overgenomen in nationale wetgeving.

De EU wet- en regelgeving^{ab} op het gebied van genetische modificatie is voornamelijk gericht op veiligheid voor mens en milieu. Voor het gebruik van dieren in het algemeen zijn daarnaast verschillende wetten en regels van toepassing aangaande dierenwelzijn, huisvesting, transport en toegestane medische ingrepen. Dit geldt eveneens voor de fokkerij en veredeling, en voor de handel in geslachtscellen en embryo's. Wereldwijd bestaat een aanzienlijke handel in geslachtscellen (zaadcellen, eicellen en embryo's). Grote spelers in dit veld op het gebied van de rundveehouderij zijn onder meer de VS en Canada, gevolgd door Nederland. Tot slot zijn ook voor wilde, beschermde en bedreigde diersoorten zowel op Europees als nationaal niveau diverse wetten en regels van toepassing.

4.1.1 Genetisch gemodificeerde organismen (ggo's)

Voor toepassingen waarbij gebruik wordt gemaakt van genetische modificatie geldt in de EU een vergunningplicht waarbij aanvragen worden beoordeeld op risico's voor mens en milieu. Een genetisch gemodificeerd organisme (ggo) is in de EU regelgeving^{ac} gedefinieerd als 'een organisme, met uitzondering van menselijke wezens, waarvan het genetische materiaal is veranderd op een wijze die van nature niet mogelijk is door voortplanting of natuurlijke recombinatie'. Technieken zoals kloneren, embryo-splitsing en celkerntransplantatie vallen niet onder de ggo-regelgeving. Organismen geproduceerd met behulp van mutage-

ab. Voor een analyse van de geschiedenis van de ggo-regelgeving, zie Bergmans *et al.* (2016). Analyse van de Europese Wet- en Regelgeving over genetisch gemodificeerde organismen. COGEM onderzoeksrapport CGM 2016-05.

ac. Richtlijn 2001/18/EG van het Europees Parlement en de Raad van 12 maart 2001 inzake de doelbewuste introductie van genetisch gemodificeerde organismen in het milieu en tot intrekking van Richtlijn 90/220/EEG van de Raad.

nese (het veroorzaken van mutaties in erfelijk materiaal door bijvoorbeeld straling of chemicaliën) zijn vrijgesteld van de ggo-regelgeving. In Europa loopt een discussie over onder meer de vraag of gerichte mutagenese technieken, zoals genome editing, al dan niet onder de ggo-regelgeving vallen of vrijgesteld zouden moeten worden.^{201,202,203,204} Over deze kwestie wordt in de loop van 2018 meer duidelijkheid verwacht van het Europese Hof.

In Europa zijn richtlijnen en verordeningen van toepassing op ingeperkt gebruik van ggo's (Richtlijn 2009/41/EG) en doelbewuste introductie in het milieu (Richtlijn 2001/18/EG). Verder geldt voor gg-levensmiddelen (bijvoorbeeld vlees van gg-dieren) en gg-diervoeders de Verordening 1829/2003/EG en voor de traceerbaarheid en etikettering van ggo's en de traceerbaarheid van met ggo's geproduceerde levensmiddelen en diervoeders de Verordening 1830/2003/EG (zie **kader Traceerbaarheid van gg-dieren en hun producten**).

Traceerbaarheid van gg-dieren en hun producten

Verordening 1830/2003/EG is van toepassing op de traceerbaarheid en etikettering van ggo's en de traceerbaarheid van met ggo's geproduceerde levensmiddelen en diervoeders. Deze verordening is zowel van toepassing op plantaardig als dierlijk materiaal en op zowel levensmiddelen en diervoeders als levende organismen. Gg-dieren en hun producten die in Europa tot de markt worden toegelaten voor productie of import, moeten traceerbaar zijn en geëtiketteerd worden. Bij een markttoelating zijn aanvragers verantwoordelijk voor het aanleveren van zowel de sequentie-informatie als een detectiemethode voor hun product. Deze methode wordt gevalideerd door het Europese Joint Research Centre (JRC). De detectiemethode is van belang in het kader van (internationale) handel en controlemogelijkheden door de douane. De huidige detectiemethoden voor controledoeleinden door douane of inspectiediensten zijn gebaseerd op het in kaart brengen van het DNA van een plantaardig of dierlijk monster en te zoeken naar algemene kenmerken van genetische modificatie of naar een specifieke modificatie. Hierbij kunnen drie niveaus van specificiteit worden onderscheiden²⁰⁵:

- Screeningsmethoden; hierbij wordt gezocht naar DNA sequenties die vaak worden gebruikt als 'hulpmiddel' om een genetische wijziging aan te brengen, zoals promotors, terminators of bepaalde resistentiegenen. Met deze methode kan worden vastgesteld dat er een modificatie heeft plaatsgevonden, maar niet welke.
- Construct specifieke methoden; hierbij wordt gezocht naar combinaties van elementen in een transgeen construct. Met deze methode kan de aan- of afwezigheid van een bepaald construct worden vastgesteld, maar kan bijvoorbeeld geen onderscheid gemaakt worden tussen verschillende events of eigenschappen die met hetzelfde of soortgelijke constructen zijn ingebracht.
- Op een specifiek ggo gerichte (event-specifieke) methoden; hierbij wordt gezocht naar sequenties die overeenkomen met de overgang van het DNA van de gastheer naar een specifiek transgen uit een donor. Deze methode is zeer specifiek en gericht op één specifiek event.

De mogelijkheden voor detectie hangen samen met het soort genetische wijziging dat is aangebracht in een gg-dier en de informatie die hierover beschikbaar is. Als niet bekend is waar naar gezocht moet worden, kan detectie zeer moeilijk tot onmogelijk zijn. De opkomst van technieken als CRISPR-Cas, maakt detectie nog lastiger. Er kan globaal een onderscheid gemaakt worden tussen inserties (toevoegen van DNA), deleties (verwijderen van een (deel van een) gen) en substituties (vervangen van DNA nucleotiden).

Inserties zijn het meest eenvoudig te detecteren vanwege de aanwezigheid van donorsequenties. Event specifieke detectie is in veel gevallen mogelijk, omdat bij de toevoeging van DNA in een gastheer op de locatie van insertie twee unieke

overgangssequenties ontstaan. Dit is lastiger bij het detecteren van de insertie van soorteigen genen, omdat moeilijker aan te tonen is of het een natuurlijke variatie betreft of een aangebrachte mutatie. Dit geldt ook voor deleties. Hoewel er, net als bij inserties, door een deletie een nieuwe unieke overgang in het DNA ontstaat, zal moeten worden aangetoond dat dit niet een van nature ontstane deletie betreft. Hoe kleiner de deletie, hoe moeilijker te detecteren. Nucleotide substituties (bijvoorbeeld puntmutaties) zijn nog lastiger te detecteren en te onderscheiden van natuurlijke variaties. Tenslotte moet er een geschikte referentie zijn, waarmee vergeleken wordt. Voor dieren is dit idealiter hetzelfde dier, maar zonder de aangebrachte genetische wijziging. In de praktijk zal dit lastig zijn.

Er bestaat in Europa geen specifieke regelgeving voor gg-dieren. De ggo-regelgeving is van toepassing op micro-organismen (schimmels, virussen, bacteriën, parasieten), planten en dieren (gewerveld en ongewerveld^{ad}). Met het oog op eventuele toekomstige aanvragen voor gg-dieren heeft de European Food Safety Authority (EFSA) in 2012 een *guidance* document opgesteld voor de risicobeoordeling van voedsel en veevoeder²⁰⁶ en in 2013 een *guidance* document opgesteld over de milieurisicobeoordeling van gg-dieren.²⁰⁶ Ook diergezondheid en -welzijn komen in dit laatste document aan de orde. Het milieu waarin gg-dieren worden ge-commercialiseerd, is soortafhankelijk en kan sterk verschillen. Daarom is een onderscheid gemaakt tussen gg-vissen, insecten, zoogdieren en vogels. In het *guidance* document worden de volgende risicoaspecten geïdentificeerd; persistentie en invasiviteit, inclusief verticale genoverdracht; horizontale genoverdracht; interacties met doelwitorganismen; interacties met niet-doelwitorganismen; milieu-impact ten gevolge van het gebruik van de gg-dieren; impact van het dier op biogeochemische processen; en de impact van de gg-dieren op menselijke en dierlijke gezondheid. Daarnaast wordt een aantal algemene issues uitgewerkt die van belang zijn voor de milieurisicoanalyse. Bijvoorbeeld de vraag welke dieren als vergelijking^{ae} gebruikt moeten worden, en hoe het milieu waarin het gg-dier wordt gebruikt kan worden gekarakteriseerd.

Internationaal hebben de Food and Agriculture Organisation of the United Nations (FAO), de World Health Organisation (WHO) en de Amerikaanse FDA soortgelijke documenten gepubliceerd voor de beoordeling van gg-dieren. Farmaceutische toepassingen, zoals medicinale eiwitten geproduceerd in dieren, worden op veiligheid getoetst door de European Medicines Agency (EMA).

4.1.2 Fokken, houden en handelen dieren en dierlijke producten

De Europese wetgeving over het fokken en houden van dieren gaat voornamelijk in op diergezondheid en milieurisico's. De EFSA speelt een belangrijke rol bij het adviseren over en beoordelen van welzijnsrisico's voor dieren.²⁰⁷ Een veelheid aan EU richtlijnen en verordeningen gaat

ad. Genetische modificatie bij mensen is niet toegestaan. Zie ook COGEM & Gezondheidsraad (2016). Ingrijpen in het DNA van de mens. Morele en maatschappelijke implicaties van kiembaanmodificatie (CGM/170328-01).

ae. In de milieurisicoanalyse is het gebruikelijk om een nieuwe toepassing te vergelijken met de bestaande situatie, de baseline. Bij toepassingen bij dieren zou je bijvoorbeeld een landbouwhuisdier met een genetische modificatie vergelijken met een zo overeenkomstig mogelijk landbouwhuisdier zonder deze genetische wijziging. Dit is bij planten eenvoudiger dan bij dieren.

nader in op het houden, huisvesten, verzorgen, handelen, transporteren en doden van dieren, identificatie en registratie van dieren, preventie en bestrijding van dierziekten en zoönosen (infectieziekten die kunnen worden overgedragen van dieren op mensen).²⁰⁸ Naast algemene richtlijnen en verordeningen bestaan er specifieke regels per diersoort, bijvoorbeeld voor de handel in geslachtscellen (zaadcellen, eicellen, embryo's) en voor de fokkerij.²⁰⁹

4.1.3 Soft law en andere initiatieven (EU)

Naast de EU richtlijnen en verordeningen zijn er (inter)nationale afspraken en gedragscodes voor de fokkerij opgesteld. Deze zijn ook gericht op ethische en maatschappelijke aspecten van fokkerijdoelstellingen. Een voorbeeld hiervan is de '*Code of Good Practice for European Farm Animal Breeding*', opgesteld in een samenwerking tussen industrie, dierenwelzijnsorganisaties, ethici en economen (code EFABAR).²¹⁰ De gedragscode is specifiek gericht op rundvee, varkens, pluimvee en aquatische organismen. Voor de varkenshouderij is er ook een internationaal samenwerkingsverband dat zich richt op gezondheid, productie, dierenwelzijn en productkwaliteit.²¹¹

4.2 Nederlandse wet- en regelgeving

De Europese wetgeving vindt zijn weerslag in de Nederlandse wetgeving rondom ggo's en dieren. De relevante onderdelen van deze wetten worden in dit hoofdstuk kort toegelicht. Nederland kent verschillende commissies en raden die adviseren over het gebruik van dieren in verschillende toepassingsgebieden, zoals de Commissie Biotechnologie bij Dieren (CBD) (zie 4.2.2), de Raad voor Dieraangelegenheden (RDA) (zie 4.2.2) en de Centrale Commissie Dierproeven (CCD) (zie 4.2.3).

4.2.1 Besluit GGO

De Europese regelgeving voor ggo's is in Nederland geïmplementeerd in het Besluit GGO^{af} en de daarbij behorende Regeling GGO. Onderzoek in laboratoria (ingeperkt gebruik) en veldproeven (introductie in het milieu) worden op nationaal niveau beoordeeld en vergund door het ministerie van Infrastructuur en Waterstaat (IenW), markttoelatingen op EU niveau. Werkzaamheden met gg-proefdieren zoals muizen en ratten in laboratoria en dierverblijven vallen onder ingeperkt gebruik. In de categorie introductie in het milieu vallen onder meer veldproeven met genetisch gemodificeerde muggen. Markttoelatingen betreffen de commerciële productie van en handel in genetisch gemodificeerde dieren en hun producten. Voor biotechnologie bij dieren geldt in Nederland daarnaast een aanvullende verplichte ethische toetsing (zie 4.2.2).

4.2.2 Wet Dieren (Wd)

Voor het gebruik van dieren en dierlijke producten geldt de kaderwet dieren (Wd)^{ag}. De Wd omvat regels over dierenwelzijn en diergezondheid, maar ook over diergeneesmiddelen en

af. Besluit van 1 april 2014, houdende regels met betrekking tot het ingeperkt gebruik en de doelbewuste introductie in het milieu van genetisch gemodificeerde organismen (Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013).
ag. Wet van 19 mei 2011, houdende een integraal kader voor regels over gehouden dieren en daaraan gerelateerde onderwerpen (Wet dieren).

dierlijke producten. De Wet is van toepassing op alle gehouden dieren, tenzij anders bepaald. Uitgangspunt van de wet is dat 'de intrinsieke waarde van dieren, zijnde wezens met gevoel, wordt erkend en dat inbreuk op de integriteit of het welzijn van dieren, verder dan redelijkerwijs noodzakelijk, moet worden voorkomen'. Op de interpretatie van de intrinsieke waarde van dieren of ingrepen die redelijkerwijs noodzakelijk worden geacht, wordt in de Wd niet nader ingegaan.

Deze wet geldt als basis voor verschillende verdergaande regelingen aangaande dieren, waaronder het Besluit en de regeling houders van dieren en het Fokkerijbesluit. In het Besluit houders van dieren^{ah} is onder meer opgenomen wat verstaan wordt onder het voorkomen van welzijns- en gezondheidsproblemen bij het fokken van gezelschapsdieren.²¹² Het Fokkerijbesluit^{ai} behandelt onder meer stamboeken, erkenning en de toelating van fokdieren.

In de Wd is ook de taak en rol van de Raad voor Dieraangelegenheden opgenomen.^{aj} In deze Raad vindt overleg plaats over vraagstukken betreffende het nationaal en internationaal beleid op het gebied van de gezondheid en het welzijn van dieren (**zie kader Raad voor Dieraangelegenheden**).

Raad voor dieraangelegenheden (RDA)

De RDA behandelt vraagstukken over de volle breedte van het dierbeleid: over gehouden en niet-gehouden, (dus 'in het wild levende') dieren, over hobbydieren, over gezelschapsdieren, en over productie- en proefdieren. De RDA is een onafhankelijke raad van deskundigen die de minister van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit (LNV) gevraagd of op eigen initiatief adviseert over multidisciplinaire vraagstukken op het gebied van dierenwelzijn, inclusief diergezondheid en ethische vraagstukken. In de loop der jaren heeft de RDA diverse zienswijzen uitgebracht over het houden van dieren en over fokkerij en voortplantingstechnieken, waaronder ook genome editing. Daarnaast heeft zij een afwegingskader ontwikkeld en een initiatief opgezet om deze te toetsen in zogeheten proefpolders.

Biotechnologie bij dieren

Voor genetische modificatie bij dieren, - zowel gewerveld als ongewerveld -, geldt in Nederland een 'nee, tenzij' beleid. Dit betekent dat er een verplichte ethische toetsing moet plaatsvinden, op basis waarvan al dan niet een vergunning wordt verleend door de minister van LNV.^{ak}

Een vergunning voor biotechnologie bij dieren^{al} wordt verleend wanneer de handelingen geen onaanvaardbare gevolgen hebben voor de gezondheid of het welzijn van dieren, en tegen de handelingen geen ethische bezwaren bestaan. Van belang is ook dat er geen reële alternatieven voor het onderzoek voorhanden zijn. Dit geldt zowel voor het doen van onderzoek als voor praktijktoepassingen.²¹³ In de wet is opgenomen dat het uitvoeren van biotech-

ah. Besluit van 5 juni 2014, houdende regels met betrekking tot houders van dieren (Besluit houders van dieren).

ai. Besluit van 8 augustus 1994, houdende regelen betreffende het fokken van vee en overige diersoorten (Fokkerijbesluit).

aj. Art.10.8 Wd.

ak. Art. 2.23 Vergunning biotechnologie, Wd.

al. Biotechnologie bij dieren is breder dan alleen genetische modificatie. Onder biotechnologie bij dieren valt bijvoorbeeld ook het kloneren van dieren.

nologische handelingen bij dieren ten behoeve van sportprestaties of vermaak, niet is toegestaan. Deze toetsing geldt overigens niet voor import van gg-dieren; die valt onder de EU regelgeving.

Een commissie van onafhankelijke deskundigen adviseert de staatssecretaris van LNV over biotechnologie bij dieren. Tot 2010 was dit de CBD.²¹⁴ Deze commissie heeft jarenlang vergunningaanvragen beoordeeld en hoorzittingen gehouden met stakeholders. In haar werk, terug te vinden in onder meer de jaarverslagen en adviezen, is zij tot een nadere uitwerking gekomen van het begrip integriteit van dieren ten aanzien van genetische modificatie.²¹⁵ Echter, met ingang van 1 januari 2010 is een vrijstelling van de Wd van kracht voor de ethische toetsing van biotechnologische handelingen bij dieren voor biomedisch onderzoek. De CBD is sindsdien niet meer actief omdat andersoortige aanvragen voorsnog niet gedaan worden in Nederland. Biomedisch onderzoek met gg-dieren valt nog wel onder de Wet op de dierproeven en moet vergund worden door de CCD.²¹⁴

4.2.3 Wet op de dierproeven (Wod)

Voor dierproeven, al dan niet met gg-dieren, is een vergunning nodig op basis van de Wet op de dierproeven (Wod).^{am} Er is zowel een instellingsvergunning als een projectvergunning vereist. Deze vergunningverlening valt onder de verantwoordelijkheid van de CCD (**zie kader Centrale Commissie Dierproeven**).

Centrale Commissie Dierproeven (CCD)

De CCD verleent in Nederland de vergunningen voor dierproeven. Zij wordt hierin geadviseerd door de Dierexperimentencommissies (DEC's) die verbonden zijn aan individuele instellingen. Een vergunning wordt in de regel verleend indien voldaan wordt aan de in de Wet opgenomen voorschriften. Het is verboden dierproeven te verrichten voor een doel dat ook kan worden bereikt via alternatieven of waarvan het belang niet opweegt tegen het ongerief dat aan het dier wordt berokkend. Elke fokker, leverancier en gebruiker van proefdieren moet daarnaast een Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) instellen. Er geldt een uitzondering voor kleinschalige vergunninghouders. De Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) controleert of de regels worden nageleefd.

De Wod is van toepassing op alle (levende) gewervelde dieren en op ongewervelde dieren die bij algemene maatregel van bestuur (AMvB)^{an} zijn aangewezen.^{216,217,217} Het al dan niet includeren van bepaalde diersoorten heeft te maken met de mate waarin kan worden aangenomen dat handelingen in het kader van dierproeven ongerief kunnen berokkenen, of waarvan het beoogde of mogelijke gevolg de geboorte betreft van een dier dat ongerief ondergaat. Onder ongerief wordt verstaan: het berokkenen van pijn, lijden, ongemak of blijvend letsel. De aanwezigheid van een centraal zenuwstelsel speelt een leidende rol bij dit

am. Wet van 12 januari 1977, houdende regelen met betrekking tot het verrichten van proeven op dieren (Wet op de dierproeven).

an. Met ingang van 2010 vallen ook inktvissen (zogenoemde Cephalopoda of koppotigen) en zelfstandig voedende larvale stadia en foetale stadia van zoogdieren vanaf het laatste (derde) deel van hun normale ontwikkeling onder de Richtlijn 2010/63/EU.

onderscheid. Het kweken/fokken of gebruiken van de meeste ongewervelden, is derhalve niet vergunningplichtig onder de Wod.

Voor dierproeven met apen gelden daarnaast extra beperkingen.¹³⁰ De EU wet- en regelgeving stelt dat proeven met mensapen alleen mogen worden toegestaan voor onderzoek dat op het behoud van de betrokken soort is gericht of dat in verband met levensbedreigende of gezondheid ondermijnende aandoeningen vereist is, voor zover geen andere soorten of alternatieve methoden aan het doel van de procedure kunnen voldoen^{ao}. Lidstaten die dergelijk onderzoek willen toestaan, moeten de Europese Commissie de informatie overleggen die nodig is om hierover een beslissing te nemen.

Nederland heeft in de implementatie van de richtlijn in de Wod echter een absoluut verbod^{ap} opgenomen op het gebruik van de meeste soorten mensapen^{aq} (chimpansees, bonobo's, orang oetans en gorilla's) in dierproeven en is daarmee strenger dan de Europese richtlijn.^{ar} Overigens hanteren ook een aantal andere lidstaten strengere regels dan de EU richtlijnen voor onderzoek met mensapen.^{as}

In Nederland mogen andere niet-humane primatensoorten (bijvoorbeeld makaken, marmosets en resusapen) onder strenge voorwaarden worden gebruikt in fundamenteel en toegepast onderzoek, bij de wettelijk verplichte beoordeling van de veiligheid van chemische stoffen en de werkzaamheid en veiligheid van geneesmiddelen, bij onderzoek naar infectieziekten, en in de transplantatiegeneeskunde. Nederland heeft een van de grootste publieke primatencentra voor wetenschappelijk onderzoek in Europa.^{at}

4.2.4 Wet op bijzondere medische verrichtingen

In hoofdstuk 3 is aandacht besteed aan de hernieuwde mogelijkheden voor xenotransplantatie door de opkomst van genome editing technieken. Onder xenotransplantatie wordt juridisch verstaan 'het in- of aanbrengen van levende bestanddelen van een dier of van een foetus of embryo van een dier, dan wel een menselijk bestanddeel dat daarmee doelgericht in aanraking is gebracht, in of aan het lichaam van een mens.' In Nederland is de klinische toepassing van xenotransplantatie bij wet verboden^{au} zolang de toepassing hiervan door deskundigen niet als voldoende veilig wordt beschouwd.^{av} In het tweede lid van dit verbod wordt echter gesteld dat een uitzondering gemaakt kan worden wanneer naar heersend

ao. Art.8, derde lid, juncto artikel 55, tweede lid, van de richtlijn 2010/63/EU.

ap. Art. 10e, Wod.

aq. Daarnaast worden gebruikelijk ook Gibbons tot de mensapen gerekend.

ar. Memorie van Toelichting, Wod.

as. Voor een volledig overzicht van het gebruik en regelgeving van primaten in Nederland en een vergelijking met Europese landen, zie de uitwerking van de motie 119: Inzet primaten in onderzoek (Tweede Kamer, Vergaderjaar 2007-2008, 30800 XVI, nr.119, bijlage.

at. Biomedical Primate Research Centre in Rijswijk.

au. Art. 6a, Wet op bijzondere medische verrichtingen.

av. Wet van 24 oktober 1997, houdende regels betreffende bijzondere verrichtingen op het gebied van de gezondheidszorg (Wet op bijzondere medische verrichtingen).

medisch inzicht onaanvaardbare risico's voor de patiënt en de volksgezondheid uitgesloten kunnen worden.

Wetenschappelijk onderzoek naar xenotransplantatie is in Nederland toegestaan en zou, mits dit valt onder medisch wetenschappelijk onderzoek, niet onderhevig zijn aan een ethische toetsing zoals omschreven in art.2.23 van de Wd (vergunning biotechnologie bij dieren). Dit type onderzoek valt echter eveneens onder de Wod en vereist een vergunning van de CCD. Ook een toetsing op milieurisico's onder de ggo-regelgeving is verplicht, indien er genetische modificatie wordt toegepast.

4.2.5 Wet Natuurbescherming

In Hoofdstuk 3 zijn naast toepassingen bij (landbouw)huisdieren en proefdieren, ook toepassingen van genome editing beschreven onder de categorie *ecological engineering*. Hier gaat het niet om gehouden dieren, maar om organismen in het milieu zoals insecten, (invasieve) exoten en uitgestorven of bedreigde diersoorten. In hoeverre deze vallen onder de ggo-regelgeving, de Wd of de Wod, hangt onder meer af van de specifieke diersoort, de methode van totstandkoming en het toepassingsgebied. Genetische modificatie valt in ieder geval onder de ggo-regelgeving ongeacht de diersoort, maar insecten vallen bijvoorbeeld niet onder de Wod (want ongewerveld). De Wd spreekt alleen over 'gehouden dieren' en lijkt daarmee niet van toepassing op bijvoorbeeld insecten of knaagdieren (als invasieve exoot) in het milieu.

Voor toepassingen van *ecological engineering* is mogelijk ook de Wet Natuurbescherming^{aw} van belang. Deze wet is gebaseerd op de Nederlandse natuurvisie, die de hoofdlijnen bevat van het te voeren rijksbeleid gericht op "het behoud en het zo mogelijk versterken van de biologische diversiteit, het duurzame gebruik van de bestanddelen daarvan en de bescherming van waardevolle landschappen, in nationaal en internationaal verband, en het behoud en het zo mogelijk versterken van de recreatieve, de educatieve en de beleevingswaarde van natuur en landschap, in samenhang met het beleid om te komen tot een verduurzaming van de economie".^{ax} In deze wet zijn onder meer de zogeheten 'rode' lijsten van bedreigde diersoorten gespecificeerd, evenals de definitie en identificatie van (invasieve) exoten.

De relevante wetgeving voor de herintroductie van uitgestorven diersoorten, hangt af van de methode waarmee deze tot stand wordt gebracht en de beoogde toepassing. De toepassing van *ecological engineering* gericht op het (her)introduceren van uitgestorven diersoorten, brengt verschillende (vooralsnog theoretische) juridische, technische en ethische vragen met zich mee.^{218,219,220}

4.2.6 Soft law en andere initiatieven (Nederland)

Naast de wet- en regelgeving zijn er in Nederland verschillende initiatieven en samenwerkingsverbanden die zich bezighouden met de wenselijkheid en richting van voornamelijk

aw. Deze vervangt sinds 2017 drie wetten; de Natuurbeschermingswet 1998, de Boswet en de Flora- en Faunawet.

ax. Art. 1.5, lid 2, Wet Natuurbescherming.

de veehouderij. Zo houdt de initiatiefgroep duurzame fokkerij zich bezig met de vraag op welke wijze fokkerij kan bijdragen aan een verduurzaming van de veehouderij, hetgeen in 2012 resulteerde in een actieplan duurzame fokkerij.²²¹ Binnen dit initiatief werd in 2016 aandacht besteed aan de rol van genome editing in de veehouderij.²²²

In de hondenfokkerij bestaan vergelijkbare initiatieven. Zo introduceerde in 2014 de Raad van Beheer op Kynologisch Gebied het programma 'Fairfok'. De doelstelling van dit programma is het fokken van een gezonde en sociale hond waarbij de Raad van Beheer zich in de eerste instantie richt op honden met een stamboom.²²³

Daarnaast hebben verschillende instanties in de veehouderij een ethische toets geïnitieerd. Zo heeft de van oorsprong Nederlands/Belgische Coöperatie Rundveeverbetering (CRV) een ethische toetsingscommissie ingesteld om nadere invulling te geven aan een duurzame rundveefokkerij in Europa.²²⁴ Dit geldt ook voor het internationale varkensfokkerijbedrijf Topigs.²²⁵ Een ethische toetsing van dierenwelzijn is in de veefokkerij niet verplicht.

4.3 Deelconclusies

- De wetten en regels rondom genome editing van dieren betreffen zowel algemene regelgeving voor het gebruik van dieren voor verschillende toepassingsgebieden als specifieke regels ten aanzien van genetische modificatie. Daarnaast kan voor specifieke toepassingen ook wetgeving voor medische verrichtingen of natuurbescherming van toepassing zijn.
- De regelgeving in Nederland is in belangrijke mate Europees bepaald. Genetische modificatie is vergunningplichtig en moet in Europa beoordeeld worden op risico's voor mens en milieu. De vergunningplicht geldt zowel voor onderzoek in laboratoria (ingeperkt gebruik) als introductie in het milieu (veldproeven en markttoelating).
- In Nederland zijn verschillende wetten van toepassing op dieren, waarbij een onderscheid gemaakt kan worden in het soort toepassing en het soort organisme.
 - De ggo-regelgeving is van toepassing op alle organismen; micro-organismen, planten, dieren. De focus van deze wetgeving ligt op milieurisico's.
 - De Wet dieren geldt voor alle gehouden dieren en lijkt daarmee niet van toepassing op wilde dieren in de natuur of natuurgebieden. De focus van deze wetgeving ligt op diergezondheid en welzijn.
 - De Wet op de dierproeven is van toepassing op gewervelde dieren en enkele ongewervelden die bij AMvB zijn vastgesteld. De focus van deze wetgeving is het faciliteren van belangrijk wetenschappelijk onderzoek en daarbij het ongerief voor proefdieren waar mogelijk te beperken of voorkomen. Dierproeven zijn vergunningplichtig en vallen onder de verantwoordelijkheid van de Centrale Commissie Dierproeven.
 - De Wet natuurbescherming is gericht op zowel planten als dieren. Het doel van deze wet is het behouden, beschermen en versterken van de (wilde en gecultiveerde) natuur. In deze wet zijn onder meer lijsten opgenomen van bedreigde diersoorten en (invasieve) exoten. Het is niet duidelijk of en hoe uitgestorven diersoorten die worden geïntroduceerd onder deze lijsten zouden vallen.
- In Nederland is een ethische toetsing voor biotechnologie bij dieren verplicht, met uitzondering van biotechnologie bij dieren voor medisch-wetenschappelijk onderzoek. Andere dan dit soort toepassingen vinden feitelijk niet (meer) plaats in Nederland waardoor de verantwoordelijke commissie (voorheen Commissie Biotechnologie bij Dieren) voor deze toetsing niet meer actief is. Deze toetsing geldt niet voor import van gg-dieren of producten hiervan. Die valt onder de EU regelgeving, die een dergelijke toetsing niet kent.

- Naast de formele toetsingskaders voor ggo's en proefdieren zijn in de praktijk ook andere initiatieven voor het monitoren en toetsen van het gebruik van dieren, bijvoorbeeld in de veefokkerij.
- In hoeverre alle toepassingen van genome editing ook onder de ggo-regelgeving (blijven) vallen, staat ter discussie. Het Europese Hof zal naar verwachting in 2018 uitspraak doen over de juridische status van gerichte mutagenese, waaronder ook bepaalde toepassingen van genome editing gerekend kunnen worden.
- De ontwikkelingen elders in de wereld gaan snel en verwacht wordt dat deze ook Europa en Nederland zullen bereiken in de vorm van import van (proef)dieren en hun producten (voedsel, medicijnen en overige producten zoals wol en leer). Deze moeten geëtiketteerd worden, maar zullen niet altijd detecteerbaar en daarmee moeilijk te controleren zijn. Dit geldt ook voor de internationale handel in geslachtscellen (zaadcellen, eicellen en embryo's).

5. Dialoog en governance: waarom en waarover?

De focus van deze signalering ligt op de opkomst van genome editing technieken voor de modificatie van dieren en de consequenties daarvan voor politiek, beleid, beroepsgroepen, wetenschappers en maatschappij. Over zowel het gebruik van dieren als de toepassing van genetische modificatie bestaan zeer uiteenlopende meningen en voorkeuren waarvan het onwaarschijnlijk is dat men tot een eenduidige mening gaat komen. Toch zullen er besluiten genomen moeten worden over het gebruik en de regulering van genome editing bij dieren. In dit hoofdstuk wordt samengevat of en hoe genome editing technieken de bestaande (maatschappelijke) dialoog over dieren kan beïnvloeden. Centraal in een dialoog is het exploreren van mogelijke perspectieven en het gezamenlijk formuleren van oplossingen.²²⁶ Vervolgens wordt in hoofdstuk 6 onderzocht of en hoe deze dialoog georganiseerd kan worden en met en door wie.

5.1 Snelheid: dialoog over gg-dieren niet langer vrijblijvend

Genome editing technieken zoals CRISPR-Cas zijn de afgelopen jaren een standaard techniek geworden in wetenschappelijk onderzoek en productontwikkeling. Deze ontwikkelingen spelen zich af in een internationale context en ook Nederland zal hier, ondanks het strenge beleid voor biotechnologie bij dieren, mee te maken krijgen, bijvoorbeeld via de import van gg-proefdieren of dierlijke producten of, indirect, het gebruik van kennis uit internationaal onderzoek waarbij genome editing bij dieren wordt gebruikt. Een complicerende factor hierbij is dat de effectuering van genome editing in veel gevallen niet of nauwelijks als zodanig herkenbaar zal zijn. Gezien de snelheid van deze ontwikkelingen lijkt een lineair proces van opinievorming naar beleid onvoldoende uit de verf te komen en zal een parallel en anticiperend traject beter aansluiten.

Genetisch gemodificeerde dieren zijn niet nieuw en het onderwerp is een terugkerend thema op de wetenschappelijke, maatschappelijke en politieke agenda. De aanleiding voor hernieuwde aandacht wordt meestal gevormd door ontwikkelingen uit wetenschappelijk onderzoek die het nieuws halen. De daadwerkelijke introductie van dit soort dieren in het publieke domein is tot nu toe vrijwel nihil. Er is wereldwijd één gg-dier op de markt voor voedseldoeleinden. De opkomst van genome editing technieken en de nieuwe mogelijkheden die deze technieken bieden, heeft het onderwerp opnieuw onder de aandacht gebracht. Anders dan voorheen, zijn er diverse factoren die erop duiden dat de discussie over dit soort dieren niet langer vrijblijvend of theoretisch is. Genome editing technieken zoals CRISPR-Cas zijn efficiënt, effectief, breed toepasbaar, snel te ontwikkelen en in de praktijk te brengen. Dit neemt een deel van de barrières weg die commercialisatie van gg-dieren in het verleden belemmerden.

Door het internationale karakter van biotechnologisch onderzoek kan er een zogenaamde geografische druk ontstaan wanneer gg-dieren elders worden ontwikkeld en gecommercialiseerd en in de internationale handel worden gebracht. Verschillen in publieke acceptatie en regelgeving zijn er bijvoorbeeld tussen Noord- en Zuid-Amerika, Azië en Europa, maar ook binnen Europa zelf. Zo kent Nederland als een van de weinige landen in Europa een additionele ethische toets voor het maken van gg-dieren, maar deze geldt niet voor import omdat hiervoor de Europese regelgeving geldt die deze toetsing niet kent.

Verschillen van mening over dit onderwerp zullen waarschijnlijk blijven bestaan. Tegelijkertijd gaan de wetenschappelijke ontwikkelingen door en is het waarschijnlijk dat genome edited dieren en hun producten, al dan niet detecteerbaar, op de (internationale) markt verschijnen. Zowel beleidsmakers, betrokken beroepsgroepen (bijvoorbeeld de veehouderij) als consumenten zullen zich hierop moeten voorbereiden of deze ontwikkelingen accepteren zoals ze komen.

5.2 Handhaafbaarheid: regelgeving niet bestand tegen internationale ontwikkelingen

Voor landen die zich hebben aangesloten bij het Cartagena Protocol voor Biosafety geldt een informatieplicht voor de handel van levende genetisch gemodificeerde organismen. In de EU geldt bovendien een etiketteringsverplichting voor ggo's en producten die gemaakt zijn met behulp van ggo's. Deze verplichting geldt ook voor geïmporteerde producten.^{ay}

Detectie van genetische modificatie bij dieren is op moleculair niveau theoretisch mogelijk als bekend is naar welke DNA sequenties gezocht moet worden. Bij de introductie van soorteigen genen en bij het aanbrengen van kleine gerichte mutaties of deleties met behulp van genome editing zal dit in de praktijk echter nagenoeg onmogelijk zijn, omdat het onderscheid met natuurlijke variaties of mutaties lastig te maken is. De effectiviteit is afhankelijk van de aangeleverde informatie door de producent. Het aanleveren van de sequentie en een detectiemethode is wettelijk verplicht bij markttoelatingen (zowel bij import als bij productie, en zowel bij dieren als bij dierlijke producten (**zie hoofdstuk 4**)). Dit geldt echter niet voor dieren die gebruikt worden in onderzoek. Er zijn gevallen bekend waarbij proefdieren in de voedselketen zijn beland, waaruit blijkt dat dit soort incidenten niet uit te sluiten zijn.²²⁷

Door internationale verschillen in wet- en regelgeving (wanneer toepassingen in andere landen niet maar in Europa en Nederland wel onder de ggo-regelgeving vallen) of door illegale import/productie, kunnen (geslachtscellen of lichaamsmateriaal van) genome edited

ay. Verordening (EG) nr. 1830/2003 van het Europees Parlement en de Raad betreffende de traceerbaarheid en etikettering van genetisch gemodificeerde organismen en de traceerbaarheid van met genetisch gemodificeerde organismen geproduceerde levensmiddelen en diervoeders en tot wijziging van Richtlijn 2001/18/EG.

dieren en hun producten, bedoeld of onbedoeld ook in Nederland terecht komen. Naast illegaal, kan dit problematisch zijn in verband met de keuzevrijheid van producent en consument en kan in het geval van vermenging of onbewust gebruik van dierlijke producten die door genome editing zijn gemaakt in onder meer de biologische sector tot aanzienlijke economische schade leiden door het verlies van certificering.

5.3 Complexiteit: vraagt om transdisciplinaire kennisontwikkeling

Sommige genome editing technieken zoals *gene drives* zijn gericht op het teweegbrengen van ecologische veranderingen in het milieu. Voorheen werden milieutoepassingen van gg-dieren vrijwel uitsluitend gericht op muggen om bijvoorbeeld infectieziekten of landbouwplagen te bestrijden. Bovendien ging het om zelflimiterende strategieën. Met de opkomst van *gene drives*, wordt ook gewerkt aan toepassingen in bijvoorbeeld knaagdieren. Beoogde toepassingen van *gene drives* om infectieziekten of plagen te bestrijden, zijn gericht op toepassing in (complexe) ecosystemen. Dit roept vragen op over omkeerbaarheid en beheersbaarheid van de consequenties. Dergelijke toepassingen zullen waarschijnlijk niet geografisch beperkt zijn, met andere woorden de verspreiding van *gene drive* organismen houdt mogelijk niet bij landsgrenzen op. Dit betekent dat eventuele Nederlandse beleidsmaatregelen daarmee ook beperkt effectief zijn en internationale samenwerking en overleg nodig zal zijn, wanneer toepassingen in omringende landen aan de orde komen.

Het wetenschappelijke en commerciële speelveld waarbinnen toepassingen ontwikkeld worden, zal door de toegankelijkheid en bruikbaarheid van genome editing technieken mogelijk verbreden en meer praktijken beïnvloeden, zoals veredelingsbedrijven en veehouders maar ook milieu- en natuurbeschermingsorganisaties. Dit alles beïnvloedt de verdere ontwikkelingen, evenals de verdeling van rechten, plichten en machtsverhoudingen. Niet alleen het wetenschappelijke speelveld, maar ook dat van het bedrijfsleven, beroepsgroepen en de maatschappij verschuift.²²⁸ Grotere variatie in toepassingen en meer betrokken stakeholders maken de beoordeling van deze toepassingen complexer. Het betrekken van transdisciplinaire expertise en perspectieven kan bijdragen aan het in kaart brengen van deze complexiteit.

5.4 Mobilisatiepotentieel: ecologische toepassingen zetten discussie op scherp

Toepassingen die een combinatie betreffen van ggo's, dieren en toepassing in het milieu hebben een verhoogd maatschappelijke mobilisatiepotentieel, dat wil zeggen dat dergelijke toepassingen mogelijk kunnen leiden tot het verheugen van bestaande maatschappelijke discussies. Dit geldt ook voor nichetoeepassingen zoals het terugbrengen van uitgestorven of bedreigde diersoorten. Bij deze discussies staat, net als bij artistieke toepassingen, de nut-noodzaak vraag centraal, zeker als daar ook (onzekere) risico's bij betrokken zijn (**zie kader Mobilisatiepotentieel van alarmerende studies en kunst met dieren**).

Mobilisatiepotentieel van alarmerende studies en kunst met dieren

De COGEM signaleerde in 2013 over het omgaan met alarmerende studies over de veiligheid van ggo's dat een (te) sterke focus op wetenschappelijke feiten en objectiviteit de onderliggende en onvermijdelijke discussie over waarden belemmert.²²⁹ Zij benadrukte het belang deze context-gerelateerde argumenten te exploreren en te articuleren in beleidsafwegingen. Daarnaast signaleerde zij in 2014 op verzoek van het ministerie van IenM over het gebruik van genetische modificatie en dieren voor kunstprojecten dat de nut-noodzaak discussie over dit soort toepassingen niet afgedekt kan worden door juridische *framing*.¹⁰ Er bestaan verschillende perspectieven op de beschermwaardigheid van dieren die niet altijd overeenkomen met de juridische of wetmatige beschermwaardigheid. Bovendien zijn deze niet strikt onder te verdelen in gewerveld of ongewerveld, in dier of dierlijk product, of in toepassing in educatieve kunst of wetenschappelijke setting. Juist door deze perspectieven te erkennen en expliciet te benoemen, kan ruimte ontstaan voor een wederzijds leerproces en mogelijke bereidwilligheid tot besluitvorming.

In hoofdstuk 2 is aandacht besteed aan de algemene thema's die een rol spelen in de discussie over het gebruik van dieren voor menselijke doeleinden. Hieruit kwam naar voren dat meningen hierover sterk kunnen verschillen en daarnaast zowel dier- als contextafhankelijk zijn. Het gebruik van hetzelfde dier kan in de ene context wel aanvaardbaar worden geacht en in de andere niet. Bovendien is de mate van acceptatie afhankelijk van het belang dat ermee gediend wordt. Over het algemeen mag een groter belang of voordeel voor de mens, hogere kosten voor het dierenwelzijn met zich meebrengen. Hierop is ook de Nederlandse wetgeving gebaseerd. Daarnaast is de houding van veel mensen ten aanzien van het gebruik van dieren ambigu.²³⁰ De nieuwe mogelijkheden die genome editing biedt voor het modifieren van dieren zal deze ambiguïteit waarschijnlijk niet wegnemen en mogelijk zelfs versterken. De aanleiding of het verloop van plotseling oploeiende maatschappelijke discussies is moeilijk te voorspellen. Eventuele vergunningaanvragen, de (il)legale import van gg-dieren of hun producten of media-aandacht kunnen daartoe een aanleiding zijn.

5.5 Natuurlijkheid: bestaande terminologie beperkt bruikbaar

Natuurlijkheid is een terugkerende term met uiteenlopende betekenissen in de discussie over biotechnologie en genetische modificatie. De term wordt zowel in juridische (definitie van een ggo), wetenschappelijke (biologisch) als maatschappelijke setting gebruikt met verschillende betekenissen en lading. Sommige toepassingen van genome editing technieken zijn zo subtiel dat ze nauwelijks of niet zijn te onderscheiden van mutaties die spontaan voorkomen in organismen. Deze modificaties zijn daarmee niet meer per definitie gekoppeld aan het overschrijden van soortgrenzen of het gebruik van soortvreemd DNA, één van de meest genoemde bezwaren tegen genetische modificatie in Nederland. Dit wordt in discussies over genome editing soms gekoppeld aan de term 'natuurlijk' en als argument gebruikt dat dergelijke wijzigingen niet tot bezwaren zouden moeten leiden (**zie kader Van nature voorkomende mutaties niet per definitie wenselijk**). Anderzijds wordt de term natuurlijk over het algemeen door tegenstanders van genetische modificatie gebruikt en wordt genetische modificatie vaak als het tegenovergestelde van natuurlijk gepresenteerd. Dit illustreert hoe betekenissen kunnen variëren onder verschillende groepen stakeholders.

Van nature voorkomende mutaties niet per definitie wenselijk

In discussies over de grenzen aan het fokken of modifieren van dieren wordt soms beargumenteerd dat een mutatie die van nature voorkomt, op weinig bezwaar zal stuiten en vrijgesteld moet worden van de regelgeving als deze via genome editing tot stand wordt gebracht. Hier zit een vooronderstelling in ten aanzien van het karakter van deze mutaties (als positief of aanvaardbaar) die niet per se representatief is voor het maatschappelijke draagvlak.

Hoornloosheid is een van nature voorkomende mutatie die op het eerste gezicht weinig consequenties heeft voor het dierenwelzijn van gehouden runderen, maar wel een voordeel biedt voor de veehouderij. Daarnaast voorkomt het dierenleed door het fysiek verwijderen van de hoorns zoals nu in de praktijk gebruikelijk is.

Mutaties die ook van nature optreden kunnen ook tot gezondheidsproblemen leiden, zoals een mutatie in de spiervorming bij het runderras Belgisch witblauw (zie hoofdstuk 3). Binnen de fokkerij van gezelschapsdieren zijn daarnaast voorbeelden bekend van selectie op ‘natuurlijke’ genetische kenmerken die niet altijd bevorderlijk zijn voor dierengezondheid en -welzijn. Uit deze voorbeelden blijkt dat mutaties in verschillende contexten/praktijken verschillend gewaardeerd worden en dat ‘natuurlijkheid’ niet per definitie een goed criterium lijkt voor de beoordeling van de wenselijkheid van bepaalde modificaties, ongeacht hoe ze tot stand gekomen zijn (natuurlijk – in stand gehouden – aangebracht).

De gebruikte terminologie ‘wel en niet natuurlijk’ en ‘wel en niet genetisch gemodificeerd’ sluit niet meer aan op de verfijndheid van de technische mogelijkheden, die soms in het verlengde liggen van het (biologisch) natuurlijke, maar zijn daarmee niet automatisch (maatschappelijk) probleemloos. De omvang of impact van de genetische wijziging hoeft namelijk niet evenredig te zijn met de mate waarin we deze wijzigingen aanvaardbaar vinden. Uit onderzoek blijkt dat de gebruikte metaforen en terminologie bij genome editing van invloed zijn op de *framing* van de publieke meningsvorming.²³¹ Gebruikte termen als ‘editing’ en vergelijkingen met computercodes suggereren wellicht een precisie en nauwkeurigheid die voorbij gaat aan de onzekerheden in de wetenschappelijke praktijk. Het begrip natuurlijkheid verliest daardoor met name in juridische en maatschappelijke discussies aan waarde en bruikbaarheid. De RDA signaleerde in 2010 dat het zinvol kan zijn om in discussies de onderliggende waarden te concretiseren.²³⁰ De vraag is dan welke waarden rondom het gebruik van dieren belangrijk zijn en of we willen beschermen of behouden en onder welke voorwaarden. Dit biedt wellicht een betere basis voor een inhoudelijke dialoog tussen betrokken stakeholders (zie hoofdstuk 6).

5.6 Proportionaliteit: verschuiving in maatschappelijke waardering

De toepassingen van genetische modificatie bij dieren waren voorheen vooral gericht op het belang voor de mens. Het ging hoofdzakelijk om het gebruik van gg-proefdieren voor fundamenteel en toegepast (medisch) wetenschappelijk onderzoek. De enkele toepassingen die ontwikkeld worden voor commerciële doeleinden zijn eveneens sterk op de mens gericht: de snelgroeiende gg-zalm, een varken dat minder fosfaat uitscheidt in de mest en dieren met meer spiergroei (voor vleesproductie).

Genome editing biedt mogelijkheden voor het bewerkstelligen van ziekteresistentie in landbouwhuisdieren en bestrijding van plaagdieren die een minder dierenvriendelijk alternatief

bieden ten opzichte van de bestaande praktijk (ziekeresistentie in plaats van inenting^{az} of ruiming in geval van infectie, *gene drive* voor invasieve exoten in plaats van gif en vallen).

Dergelijke toepassingen dienen niet alleen het belang van de mens (zoals bij productieverhoging), maar kunnen ook het dierenwelzijn bevorderen (binnen het bestaande systeem van de veehouderij en voedselproductie). Opgemerkt moet worden dat deze toepassingen waarschijnlijk niet tegemoet komen aan visies die een absolute interpretatie van integriteit hanteren of die de bestaande context waarbinnen dieren worden gebruikt als onwenselijk beschouwen. Het gaat, binnen de bestaande systemen, om het beperken of voorkomen van ongerief. Bestaande systemen kennen een lange geschiedenis waarbij dieren door mensen functioneel worden gebruikt zoals voor vlees- en melkproductie (veehouderij) of voor kennisontwikkeling (proefdieren) en waarbij in meer of mindere mate concessies worden gedaan aan het dierenwelzijn.²⁸ Specifieke toepassingen van genome editing bij dieren hoeven op zichzelf niet nadelig te zijn voor dierenwelzijn, maar ze vinden wel plaats in een systeem dat inherent gekoppeld kan zijn aan een beperking van het dierenwelzijn en toenemende instrumentalisering. Bovendien moet worden aangetekend dat voor de ontwikkeling van toepassingen van genome editing bij dieren mogelijk meer experimenten moeten worden gedaan, hetgeen een toename van het aantal en het soort gemodificeerde proefdieren kan betekenen. Genome editing kan ook een verdergaande instrumentalisering van dieren faciliteren dan nu het geval is, zoals bij xenotransplantatie en het genereren van chimere dieren.

De stuwende krachten achter toepassingen van genetische modificatie bij dieren waren voornamelijk wetenschappelijk, medisch of therapeutisch en economisch gewin of gemak voor de mens. Met de introductie van genome editing technieken kan daar het relatieve belang voor het dier als component bijkomen, waardoor de aard van de discussie en ook de afweging en draagvlak voor toepassingen kan verschuiven. Of en in hoeverre dit het geval is, is afhankelijk van de context van de specifieke toepassing.⁶¹ Het principe van proportionaliteit verdient daarom bij de beoordeling van de relatie tussen het toepassingsdoel en het middel genome editing extra aandacht.

Deelconclusies

Op basis van de voorgaande hoofdstukken, heeft de COGEM zes thema's geïdentificeerd die inhoudelijk danwel procedureel van belang zijn voor de politieke, beleidsmatige, beroepsgroepgerichte, wetenschappelijke en maatschappelijke dialoog over genome editing bij dieren:

1. Snelheid: Het tempo van de ontwikkelingen vraagt dringend om internationale afstemming, bevordering van publieke opinievorming en beleidsmatige voorbereiding op verschuivingen in maatschappelijke waardering van genome editing bij dieren.

az. In veel gevallen leidt inenting tot uitsluiting van het dier voor de productieketen omdat geen onderscheid gemaakt kan worden tussen ingeënte dieren en dieren die een infectie hebben doorgemaakt. In de praktijk betekent dat dieren eerder geruimd dan ingeënt worden. Inenting is daarmee niet per definitie een wenselijk alternatief in de huidige praktijk.

2. Handhaafbaarheid: Detectie van toepassingen van genome editing bij dieren is in veel gevallen alleen mogelijk wanneer bekend is naar welke DNA sequenties gezocht moet worden. En zelfs dan zal het onderscheid tussen aangebrachte en van nature ontstane mutaties moeilijk aan te tonen zijn. Handhaving wordt daardoor in praktische uitvoering en in internationaal verband gezien steeds meer problematisch.
3. Complexiteit: Grensoverschrijdende milieu- en ecosysteemttoepassingen vragen om een multidisciplinaire aanpak in risicobeoordeling en internationaal overleg.
4. Mobilisatiepotentieel: De toepassing van genome editing bij dieren kan potentieel leiden tot een versterking van bestaande maatschappelijke discussies. Het is van belang dat de overheid in deze situaties niet alleen wijst op wetenschappelijke feiten, maar ook oog heeft voor context- en waardegerelateerde argumenten en deze articuleert in beleidsafwegingen.
5. Natuurlijkheid: De aard van de toepassingen maakt het begrip natuurlijkheid minder bruikbaar in met name de juridische context. Het is daarom van belang de onderliggende argumenten voor de invulling van dit begrip te verhelderen.
6. Proportionaliteit: Sommige nieuwe toepassingen bieden naast voordelen voor de mens ook relatieve voordelen wat betreft dierenwelzijn, terwijl andere toepassingen juist een verdergaande instrumentalisering van dieren faciliteren die nadelige effecten kan hebben voor diergezondheid en -welzijn. Dit kan leiden tot een andere uitkomst van de afweging van risico's en voordelen dan voorheen.

6. Dialoog en Governance: hoe dan?

De Nederlandse overheid streeft ernaar om (bio)technologie en het daaraan gekoppelde beleid zo goed mogelijk te laten aansluiten bij maatschappelijke behoeftes en problemen door middel van onder meer het betrekken van stakeholders. Dat blijkt onder meer uit de door het ministerie van IenW georganiseerde stakeholderbijeenkomsten in het kader van de modernisering van het biotechnologiebeleid.^{232,233} Ook internationaal zijn er initiatieven ontplooid om maatschappelijke inbreng mee te nemen in procedures voor wetenschappelijke agendasetting (*upstream participation*), ontwikkeling en het gebruik van de uitkomsten van biotechnologisch onderzoek en toepassingen.^{234,235,236} De uitwerking van deze initiatieven brengt echter ook uitdagingen met zich mee die in de volgende paragrafen worden uitgewerkt.

6.1 Stakeholderbetrokkenheid beperkt succesvol

Er worden regelmatig bijeenkomsten georganiseerd voor stakeholders en geïnteresseerd publiek rondom biotechnologische ontwikkelingen en de besluitvorming daarover. Tegelijkertijd bestaat de indruk dat deze bijeenkomsten zelden succesvol zijn, mede omdat voor- en tegenstanders niet dicht bij elkaar lijken te komen en gesprekken vaak lijken te verzanden in een uitwisseling van bekende standpunten. Het is dan lastig de uitkomsten hiervan naar ieders tevredenheid door te voeren in het beleid. Ook voelen betrokkenen bij stakeholderbijeenkomsten zich soms overvallen door de ontwikkelingen en hebben zij het gevoel dat op dat moment inspraak niet goed meer mogelijk is en er weinig meer gestuurd kan worden.²³⁷ Enerzijds worden normatieve elementen in discussies over genetische modificatie en het belang daarvan erkend, maar anderzijds worden deze elementen soms uitgesloten in de (juridische) besluitvorming.²³⁸ Dat kan leiden tot frustratie onder stakeholders. Er is blijvende interesse voor en behoefte aan duidelijkheid over de rol en inzet van maatschappelijke dialoog - en van betrokkenheid van stakeholders in het bijzonder - bij het vormgeven van biotechnologische ontwikkelingen. Ook in Nederland en bij de COGEM heeft dit onderwerp de aandacht.^{ba}

6.2 Aan de beschikbare methodes ligt het niet

Het betrekken van stakeholders bij technologieontwikkeling en besluitvorming daarover wordt ook wel *Responsible Research & Innovation of Adaptive Governance* genoemd. Hierbij worden onder meer anticipatie, inclusie, reflexiviteit en responsiviteit genoemd als kernwaar-

ba. De subcommissie Ethiek en Maatschappelijke Aspecten (ScEMA) van de COGEM heeft in 2017 een werkgroep ingericht om de rol en randvoorwaarden voor effectieve stakeholderbetrokkenheid nader te verkennen. De bevindingen van deze werkgroep zijn in een intern stuk verwerkt en in dit hoofdstuk toegepast op de geïdentificeerde issues bij genome editing van dieren.

den.²³⁹ Ook over hoe deze aanpak in de praktijk te brengen, is veel kwalitatieve literatuur beschikbaar.²⁴⁰⁻²⁴⁵ Naast analyses van de effectiviteit van bepaalde methodes worden er handvatten geboden wanneer voor welke methode te kiezen.²⁴⁶⁻²⁴⁹ De COGEM heeft diverse onderzoeksprojecten laten uitvoeren naar de rol en mogelijkheden van stakeholderbetrokkenheid rondom genetische modificatie.^{249,250} Daarnaast signaleert zij over de valkuilen en knelpunten in processen waarbij stakeholders betrokken worden. Als aandachtspunten noemt zij hierbij onder andere transparantie over het doel en de beperkingen van de input, en de inclusie en continuïteit van stakeholdergroepen.²⁵¹ Ook zijn er verschillende methoden en afwegingskaders ontwikkeld die behulpzaam kunnen zijn bij het identificeren van maatschappelijke implicaties van technologie of het afwegen van een breed scala aan factoren.^{252, 253}

De COGEM constateert dat tegenvallende resultaten van stakeholderbetrokkenheid mogelijk niet liggen aan de beschikbare methoden, maar aan het traject dat voorafgaat aan de keuze voor een bepaalde aanpak. Er blijkt regelmatig onduidelijkheid ten aanzien van het doel van stakeholderparticipatie (inhoud- of procesgericht), de feitelijke inhoud, de vorm (participatie, consultatie of inspraak), en over wie de stakeholders zijn. Samengevat kunnen er drie knelpunten worden geïdentificeerd rondom stakeholderbetrokkenheid:

1. Onenigheid over de definitie van het probleem;
2. Onenigheid over het doel en de methodes om dat probleem op te lossen;
3. De aanpak van ongestructureerde problemen^{bb} met (participatie)methodes voor (semi-) gestructureerde problemen.

Indien er, bewust of onbewust, onduidelijkheid of onenigheid bestaat over de aard van het probleem dat speelt, gestructureerd of ongestructureerd, zal het niet lukken een eenduidig doel vast te stellen. En als er geen eenduidig doel is, zullen ook de meningen over het al dan niet geslaagd zijn van de stakeholderbetrokkenheid uiteen lopen.

6.3 Probleemstructurering essentieel startpunt

Het doel van stakeholderbetrokkenheid moet duidelijk zijn om te kunnen vaststellen of het traject geslaagd is. Dit succes kan in verschillende dimensies geduid worden, waarbij een onderscheid gemaakt kan worden tussen interne (door de deelnemers bepaalde) en externe (door de initiators van de participatie bepaalde) criteria en tussen inhoud en procesgerelateerde criteria. Betrokkenen kunnen verschillende (intrinsieke en extrinsieke) doelstellingen hebben en ook een verschillende beoordeling ten aanzien van de vraag of het traject geslaagd is of niet. Overigens kan stakeholderbetrokkenheid ook een doel op zichzelf zijn en wel als onderdeel van een democratische legitimering van beleid of besluiten.

bb. Biotechnologie en genetische modificatie worden in de literatuur vaak geïdentificeerd als een zogeheten 'ongestructureerd probleem' (Hisschemoller & Hoppe, 1995), waarbij zowel onenigheid bestaat over de (wetenschappelijke) feiten als over de maatschappelijke waarden die in het geding zijn.

In een poging om met de geconstateerde knelpunten om te gaan, kunnen twee fasen worden onderscheiden met betrekking tot stakeholderbetrokkenheid in de discussie over genome editing bij dieren: 1) De probleemstructurering en 2) De identificatie en evaluatie van mogelijke oplossingsrichtingen.

6.3.1 Fase 1: Probleemstructurering

In fase 1 gaat het om een verkenning en structurering van het probleem. Deze fase van stakeholderbetrokkenheid heeft vooral een normatief karakter.²⁵⁴ Het gebruikte discours is overwegend normatief (gericht op het signaleren van kansen en risico's in de maatschappelijke context) en reflectief (via argumenteren, confronteren en eventueel bijstellen).²⁴⁸ Niet een vooraf door de initiatiefnemers van de stakeholderactiviteit gedefinieerd probleem vormt het vertrekpunt, maar hetgeen waarover onenigheid of dissensus bestaat.²⁵⁵ Castle & Culver (2013) ontwikkelden voor de fase van probleemstructurering de methode van *contested exchange*, waarbij niet gezocht wordt naar gedeelde waarden, maar juist expliciet wordt onderzocht waar onenigheid over bestaat.²⁵⁶ Hiermee kan de voorbereidende fase van stakeholderbetrokkenheid gestructureerd en verhelderd worden. Het achterliggende idee is dat vaak te snel wordt overgegaan naar het zoeken naar consensus en oplossingen, omdat men denkt dat het probleem helder is. Hierdoor kunnen alternatieve oplossingsrichtingen over het hoofd worden gezien. Probleemstructurering door een gezamenlijk leerproces en opinievorming wordt door Poort (2012) uitgewerkt in twee stappen:

1. Identificeren en documenteren van verschillende perspectieven op het thema/probleem (articulatie);
2. Systematische uitwisseling van inzichten vanuit die perspectieven met focus op de punten die omstreden zijn (confrontatie).²⁵⁷

Door het structureren en expliciet maken van het probleem kunnen beleidsdoelen geïdentificeerd worden en kunnen passende methoden worden gezocht om deze doelen te bereiken (fase 2). Probleemstructurering heeft echter niet als doel om beleid te vormen. Het is een methode die kan worden toegepast in het voortraject om knelpunten expliciet te maken en opinievorming te faciliteren.

Maatschappelijke implicaties van een technologie zijn vaak vooraf niet bekend, ook niet voor de ontwikkelaars ervan. Toepassingen van een nieuwe technologie krijgen niet alleen te maken met publieke waardering of afwijzing, ze veranderen tegelijkertijd ook onze sociale en culturele structuren. Juist daarom is het van belang om flexibiliteit te hanteren in deze voorbereidende fase met als ultiem doel een gezamenlijke probleemdefinitie te verkrijgen.²⁴⁵ Het opstellen van een brede agenda met aandacht voor zowel technische als maatschappelijke vragen zal niet gemakkelijk zijn vanwege verschillen in kennis, de bestaande (gepolariseerde) verhoudingen, of het achterhouden van (eigen) belangen. In die zin is het belangrijk een participatie-ethiek te hanteren, waarin wederkerigheid een belangrijke rol speelt: deelnemers hebben plichten tegenover elkaar, maar mogen ook verwachtingen van elkaar hebben (**zie 6.4.3**).

Nieuwe kwesties rondom technologieontwikkeling of issues die andere perspectieven op reeds bestaande issues naar voren brengen vragen eerst om een fase van probleemstructureering voordat gekeken kan worden naar probleemoplossingen. Fase 1 kan helpen de aard van die nieuwe perspectieven te articuleren.

6.3.2 Fase 2: Identificatie en evaluatie oplossingsrichtingen

In fase 2 gaat het om de identificatie van oplossingsrichtingen. Dit is pas zinvol als er een gezamenlijke probleemdefinitie is. Deze vorm van stakeholderbetrokkenheid heeft een pragmatische motivatie en kent daarmee vaak een beperktere en specifieke groep van deelnemers.²⁴⁸ Het gebruikte discours kan meer cognitief (probleemgericht, oplossen binnen een professionele of gebruikerscontext) en/of regulatief (toetsen van en reflecteren op procedures en regelgeving) zijn.²⁵⁴ Fase 1 en 2 hoeven niet per definitie opeenvolgend en aansluitend plaats te vinden, maar kunnen ook afzonderlijk worden georganiseerd.

Bij fase 2 gaat het overigens niet alleen om beleidsopties en regulering (*hard law*), maar kan ook gedacht worden aan zogeheten *soft law*. *Soft law* zijn semi-formele instrumenten met een beperkte juridische bindende waarde, waarin afspraken gemaakt worden tussen belanghebbenden en betrokkenen, zoals gedragscodes, convenanten en keurmerken. Door het karakter biedt *soft law* een laagdrempelige mogelijkheid om nieuwe en onzekere ontwikkelingen te organiseren met de potentie dat werkzame afspraken later kunnen worden omgezet in daadwerkelijke regulering (*hard law*).

Issues rondom technologieontwikkeling die niet nieuw zijn maar waarvan helder is dat ze bestaand beleid of regelgeving onder druk zetten en aanpassing vereisen, kunnen in een fase 2 traject worden opgepakt. Issues die in fase 1 voldoende zijn uitgekristalliseerd en een heldere probleemformulering hebben, kunnen ook in deze fase terecht komen.

6.4 Randvoorwaarden

Voor een succesvolle betrokkenheid van stakeholders kunnen tenminste drie randvoorwaarden worden geïdentificeerd, die gezien kunnen worden als een (professionele) ethiek voor stakeholdersbetrokkenheid: transparantie over het doel, transparantie over het proces en het principe van wederkerigheid.

6.4.1 Transparantie doel

Organisatoren van stakeholderbetrokkenheid opereren vanuit een specifieke context en met een bepaald doel. Het doel van stakeholderparticipatie wordt echter niet altijd expliciet gemaakt door de initiatiefnemers. Het doel en de methode van stakeholderbetrokkenheid moeten aansluiten bij het thema dat ter discussie staat. Een zorgvuldige vaststelling van het doel is een voorwaarde voor het slagen van stakeholderbetrokkenheid. De mate waarin dit participatief plaatsvindt, is een essentiële factor bij de beoordeling of stakeholderparticipatie geslaagd is of niet. Bij aanvang van een stakeholderdialoog is het van belang dat expliciet gemaakt wordt wat het doel is van de betrokkenheid en wie dat heeft vastgesteld.

6.4.2 Transparantie proces

Het proces van stakeholderbetrokkenheid kan verschillende vormen hebben, maar in de praktijk worden verschillende termen vaak door elkaar gebruikt. Ten eerste kan een onderscheid gemaakt worden tussen stakeholderbetrokkenheid en maatschappelijke dialoog.^{bc} Binnen stakeholderbetrokkenheid kunnen verschillende vormen van betrokkenheid onderscheiden worden. Gaat het bijvoorbeeld om stakeholderconsultatie: het consulteren van stakeholders om informatie en perspectieven te inventariseren, of om stakeholderparticipatie, waarbij stakeholders actief onderdeel uitmaken van een specifiek traject met een bepaald doel? En binnen deze participatie zijn ook weer verschillende gradaties mogelijk; wat is bijvoorbeeld het mandaat van de stakeholders in de besluitvorming? Hebben ze een formele stem of vormen ze een klankbordgroep? Vanuit het oogpunt van verwachtingsmanagement is het van belang dit aspect expliciet te communiceren.

6.4.3 Principe van wederkerigheid

Naast een zorgvuldige vaststelling van het doel van de betrokkenheid en de communicatie over het proces, is het van belang het traject te zien als een wederkerige relatie tussen betrokkenen, ongeacht hun competenties of positie. Hierdoor worden alle betrokkenen ‘eigenaar’ van het traject met eigen rechten en plichten (eigen verantwoordelijkheden). Initiators hebben de plicht om helderheid te verschaffen over het doel, hun eigen agenda en de mate van inspraak. Zij dienen ook expliciet te maken welk (deel van het) probleem wordt geadresseerd. Deze plichten kunnen worden gezien als rechten van de deelnemers. Tegelijkertijd hebben deelnemers de plicht om inzicht te geven in hun eigen agenda, belangen en verwachtingen. Alleen dan hebben initiators de mogelijkheid om op deze verwachtingen in te gaan – of niet. Als vanuit beide kanten niet helder is wat de doelen zijn, welke verwachtingen er van participatie bestaan, of welk probleem er wordt geadresseerd, dan bestaat het risico dat deelnemers een ander pad volgen zonder zich daar bewust van te zijn of zonder daar verantwoordelijkheid voor te nemen. Ook kunnen deelnemers vanuit strategisch oogpunt of met een verborgen agenda deelnemen aan stakeholderactiviteiten. Door het participatietraject te zien als een wederkerige relatie kan men dit doorbreken. Dit kan in de praktijk nog steeds betekenen dat de doelen van deelnemers kunnen afwijken van het daadwerkelijk gevolgde traject, maar door deze doelen vooraf op tafel te leggen, hebben initiators duidelijkheid verschaft over de te volgen lijn.

6.5 (Maatschappelijke) dialoog; met wie?

Niet zelden wordt in rapporten over technologieontwikkeling opgeroepen tot een maatschappelijke dialoog, die moet resulteren in een breed draagvlak voor de te kiezen richting van beleid en technologieontwikkeling. Dit suggereert ten eerste dat er een consensus moet en kan

bc. Stakeholderbetrokkenheid is vooral gericht op beleidsvorming dan wel besluitvorming op beroepsmatig, beleidsmatig en politiek niveau. Maatschappelijke dialoog kan consequenties hebben voor beleidsvorming dan wel besluitvorming, direct of indirect, maar dit hoeft niet. Maatschappelijke dialoog kan bijvoorbeeld ook bijdragen aan bewustwording van technologische ontwikkelingen of het faciliteren van meningsvorming.

worden behaald. Ten tweede roept dit de vraag op wie deze maatschappelijke dialoog moet voeren en wie deze moet organiseren? Dit zijn lastige vragen zonder eenduidig antwoord.

Strikt genomen zijn stakeholders personen of vertegenwoordigers van organisaties met een belang. In de praktijk wordt met stakeholders soms ook een veel bredere groep betrokkenen of geïnteresseerden geduid. In deze paragraaf worden enkele hoofdgroepen van stakeholders en betrokkenen geïdentificeerd en wordt een indicatie gegeven welke bijdrage zij zouden kunnen leveren aan de maatschappelijke dialoog en stakeholderbetrokkenheid rondom genome editing bij dieren. Bij andere technologieën of toepassingen kunnen dit andere groepen zijn. Dit is bovendien geen in- of uitsluitende indeling. Het is van belang dat de drie hoofdgroepen van betrokkenen (maatschappij, technologie en beleid) zowel bij fase 1 als fase 2 interacties betrokken kunnen zijn. Waar normatieve discussies (fase 1) vragen om een zo breed mogelijke inbreng, kunnen meer pragmatische discussies (fase 2) over uitgekristalliseerde probleemdefinities ook volstaan met een gerichte vertegenwoordiging uit een van de hoofdgroepen.

6.5.1 Maatschappij: consument, patiënt en burger

Stakeholders: consument, patiënt, burger en de overkoepelende organisaties die de belangen van deze groepen vertegenwoordigen.

Deze groep stakeholders bepaalt indirect het draagvlak voor de toepassing van nieuwe technologie door al dan niet gebruik te maken van de eindproducten. Dit doet zij door al dan niet een bewuste keuze te maken voor bepaalde producten en diensten. Dit vereist dat relevante informatie beschikbaar en toegankelijk is en veronderstelt dat consumenten hier een mening over hebben (gevormd) en het onderwerp van belang vinden. Dialoog kan er echter ook of juist op gericht zijn om meningsvorming te faciliteren.

De stakeholders hebben ten aanzien van het gebruik van genome editing bij dieren en hun producten, een breed scala aan voorkeuren (vleeseters, vegetariërs, veganisten etc.), prioriteiten (prijs, kwaliteit, hoeveelheid) en overtuigingen (ten aanzien van dierenwelzijn, duurzaamheid, etc.) die bovendien soms tegenstrijdig of onverenigbaar zijn. Dat hoeft niet problematisch te zijn, omdat de Nederlandse consument eveneens een breed scala aan keuzemogelijkheden heeft ten aanzien van dierlijke producten die het mogelijk maken individuele wensen en prioriteiten in de praktijk te brengen door koop- en gebruikersgedrag. Het maatschappelijk draagvlak voor de productiewijze van bepaalde producten kan echter in de loop der tijd veranderen. En voor sommige toepassingen is wellicht nog helemaal niet bekend of en in hoeverre hier draagvlak voor is. Daarbij kan bijvoorbeeld gedacht worden aan xenotransplantatie of het produceren van menselijke organen in chimere dieren. Nu de technische belemmeringen door de opkomst van genome editing voor dergelijke ontwikkelingen lijken te verdwijnen, verdient het in kaart brengen van het maatschappelijke draagvlak voor deze toepassingen de aandacht van zowel technologie ontwikkelaars en gebruikers als van beleid.

De praktische uitvoerbaarheid van maatschappelijke voorkeuren en wensen vereist specialistische kennis over de praktijk en specifieke diersoorten. De RDA concludeerde in

haar rapport over fokkerij en voortplantingstechnieken dat kopers van dierlijke producten te ver af staan van de fokkerij om inhoudelijke keuzes te maken over doeleinden van deze sector.²⁵⁸ Maatschappelijke stakeholders spelen echter een belangrijke rol in de signalering en structureringsfase van een thema (fase 1). Pas in fase 2 gaat het om de haalbaarheid en uitvoerbaarheid van maatschappelijke voorkeuren en wensen. Om een draagvlak te creëren, is het belangrijk dat maatschappelijke stakeholders vertegenwoordigd blijven in fase 2, door belangenorganisaties zoals patiëntenverenigingen, consumentenorganisaties en NGOs uit de biologische sector of milieuorganisaties te betrekken bij overleggen van de technologiegebruikers en –regulatoren van genome editing

6.5.2 Technologie: ontwikkelaars en (directe) gebruikers

Stakeholders: (inter)nationale wetenschappers, beroepsgroepen zoals fokkers, dierenartsen en fokkerij ondersteunende organisaties (inseminator, fokkerijvoorlichter en dierenpeciaalzaak) en overkoepelende organisaties (fokverbanden en fokverenigingen).

Deze stakeholders vormen de brug tussen maatschappelijke en beleidsmatige actoren door hun inhoudelijke kennis van zowel de genome editing technologie, als de praktijk waarbinnen deze kan worden toegepast. Hierbij moet worden opgemerkt dat deze kennisbasis onderhoud vereist; dat wil zeggen dat het van belang is voor bijvoorbeeld beroepsgroepen zoals fokkers, maar ook dierenartsen, om up-to-date te blijven over de technische en wetenschappelijke mogelijkheden. Afstemming en dialoog tussen deze groepen over de mogelijkheden en richting van de ontwikkelingen is daarbij van belang. Ook de RDA signaleerde dat de wetenschappelijke ontwikkelingen rondom voortplantingstechnieken een blijvend aandachtspunt moet zijn in educatie en opleiding.²⁵⁸ Het gaat zowel om technologieontwikkelaars (wetenschappers) als gebruikers (beroepsgroepen en ondersteunende organisaties).

In de fokkerij zijn er naast productieverhoging en verbetering belangen zoals milieu en biodiversiteit, die de individuele fokker te boven gaan. Daarom worden fokkerijdoelen geformuleerd op het niveau van bijvoorbeeld stamboeken en fokkerijverenigingen. Om de beoogde veranderingen te realiseren, worden vervolgens keuzes gemaakt op het niveau van individuele dieren. De RDA concludeerde dat het fokkerijbedrijfsleven – samen met andere partijen in de dierlijke keten – een verantwoordelijkheid draagt om ethische vraagstukken rondom fokkerij te identificeren en gezamenlijk aan te pakken. Dit zou onder andere vorm gegeven kunnen worden door de discussie rondom genome editing proactief te voeren. Hiervoor is kennisuitwisseling met de wetenschappelijke sector van groot belang.

Het fokkerijbedrijfsleven heeft eveneens zijn eigen belangen, voorkeuren, prioriteiten en wensen, bijvoorbeeld het behouden of verbeteren van bepaalde diersoorten, het behouden of verbeteren van het huidige productie- en kwaliteitsniveau of het behouden of verbeteren

van het duurzaamheidsniveau van dierlijke productie. De stakeholders in de groep technologieontwikkelaars en -gebruikers zijn van belang voor zowel probleemstructurering (fase 1) als het identificeren van mogelijke oplossingsrichtingen (fase 2).

De juridische mogelijkheden voor het in de praktijk brengen van deze voorkeuren worden op hun beurt weer bepaald door de volgende groep stakeholders: beleidsmakers en -uitvoerders. Beleidsontwikkeling vereist specialistische kennis over wet- en regelgeving en de internationale context.

6.5.3 Beleid: professionele experts en uitvoeringsorganisaties

Stakeholders: (Inter)nationale en multidisciplinaire experts en adviescommissies, beleidsmakers, juridische experts.

De overheid is verantwoordelijk voor het ontwikkelen van beleid rondom de minimumnormen voor het welzijn en de gezondheid van dieren in Nederland inclusief ondersteunende instrumenten als identificatie en registratie. Dit wordt zij geacht te doen op basis van zowel de wensen en voorkeuren van de maatschappelijke stakeholders als die van de technologieontwikkelaars en -gebruikers. De overheid speelt zowel een rol bij het bevorderen van dialoog tussen verschillende stakeholdergroepen om opinievorming te faciliteren, alsook bij het stimuleren van innovatie (zoals het ontwikkelen van alternatieven voor proefdieren, of het stimuleren van een duurzame veehouderij).

Daarmee heeft de overheid vooral een rol als procesmanager die een verantwoordelijkheid heeft op het gebied van probleemstructurering, conflictbeheersing en het afwegen van alle relevante invalshoeken, ongeacht de dominantie of macht van een bepaalde groep in een sector of toepassingsgebied.²⁴⁸ Dit is een belangrijke kwestie die ook raakt aan de vraag wie als representant van welke groep geldt en in die zin spreekrecht kan opeisen. Soms is het moeilijk in te schatten hoe representatief individuele actoren zijn; dit kan deels opgevangen worden door flankerend of voorafgaand survey-onderzoek. De betrokkenheid van stakeholders moet daarnaast passen bij de institutionele en juridische context. Dit wordt ook wel *scalar fit* genoemd. *Scalar fit* van de dialoog verwijst naar de aansluiting bij bestaande jurisdicties en instituties zoals de bestaande (EU en Nederlandse) regelgeving en de bestaande (advies)organen m.b.t. tot biotechnologie. Ook het bewaken van dit punt ligt bij de overheid als procesmanager.

Overheid en beleidsmakers hebben kennis nodig uit een breed scala aan expertises om een inschatting en afweging te kunnen maken van de verschillende belangen. Hiervoor kunnen zij onder meer gebruik maken van adviescommissies (zoals de COGEM en de RDA), maar ook directe contacten onderhouden met stakeholders uit de praktijk.

In **Bijlage A van deze signalering** zijn als vingeroefening de maatschappelijke en ethische aspecten van genome editing bij dieren gekoppeld aan relevante stakeholdergroepen en het doel van de dialoog om een indicatie voor de dialoogagenda te bieden.

Deelconclusies

Stakeholderbetrokkenheid wordt als een belangrijk instrument gezien voor de ontwikkeling van (draagvlak voor) beleid over technologische toepassingen. Tegelijkertijd blijkt de uitvoering en uitwerking van stakeholderactiviteiten een grote uitdaging en blijft er in veel gevallen ontevredenheid bestaan over de uitkomsten bij betrokkenen. In dit hoofdstuk is gekeken naar de oorzaken en mogelijke verbeterpunten met betrekking tot procedures voor stakeholderbetrokkenheid.

- De COGEM constateert dat de ontevredenheid over stakeholderbetrokkenheid niet zozeer ligt aan de beschikbare methoden voor stakeholderbetrokkenheid, maar aan het proces dat hieraan vooraf gaat: de probleemstructurering (fase 1). Pas daarna kan stakeholderbetrokkenheid zich richten op de identificatie en evaluatie van mogelijke oplossingsrichtingen (fase 2).
- Voor een succesvolle betrokkenheid van stakeholders kunnen tenminste drie randvoorwaarden worden geïdentificeerd, die gezien kunnen worden als een (professionele) ethiek voor stakeholdersbetrokkenheid: transparantie over het doel, transparantie over het proces en erkenning van het principe van wederkerigheid.
- In de discussie en dialoog over genome editing bij dieren kunnen drie hoofdgroepen stakeholders geïdentificeerd worden: maatschappelijke stakeholders (zoals consumenten, patiënten en burgers), technologie-ontwikkelaars en -gebruikers (zoals wetenschappers, beroepsgroepen en overkoepelende organisaties) en beleidsgerichte stakeholders (zoals adviescommissies, beleidsmakers en juridische experts).
- Het is van belang dat de drie hoofdgroepen van betrokkenen (maatschappij, technologie en beleid) zowel bij fase 1 als fase 2 interactief betrokken zijn. Waar normatieve discussies (fase 1) vragen om een zo breed mogelijke inbreng, kunnen meer pragmatische discussies (fase 2) over uitgekristalliseerde probleemdefinities ook volstaan met een gerichte vertegenwoordiging uit een van de hoofdgroepen.

7. Conclusie en signalering

Genetisch gemodificeerde dieren zijn niet nieuw en het onderwerp is een terugkerend thema op de wetenschappelijke, maatschappelijke en politieke agenda. De daadwerkelijke introductie van dit soort dieren in het publieke domein (buiten het medisch-wetenschappelijk onderzoek) is tot nu toe echter vrijwel nihil. De nieuwste technieken, zogeheten genome editing technieken, gaan hier naar verwachting verandering in brengen. Technieken zoals CRISPR-Cas zijn efficiënt, effectief, breed toepasbaar en zeer snel te ontwikkelen. Dit neemt veel technische en economische barrières weg die commercialisering van gg-dieren in het verleden belemmerden. Tegelijkertijd is detectie en daarmee de handhaving van wet- en regelgeving over dit soort dieren en hun producten praktisch gezien nauwelijks meer mogelijk. De discussie over het genetisch modificeren van dieren is daarmee niet langer vrijblijvend of theoretisch, maar vraagt om een actieve inzet van betrokken stakeholders en beleid.

7.1 Nationale regelgeving niet bestand tegen internationale ontwikkelingen

Genome editing technieken worden al volop toegepast in onderzoek met dieren, zoals proefdieren, (landbouw)huisdieren, wilde dieren waaronder ook insecten. De toepassingen zijn zeer divers en kennen elk hun eigen technische uitdagingen en bredere problematiek in een eventuele commerciële toepassing. Wat ze gemeen hebben is dat het gebruik van genome editing technieken in sommige gevallen niet tot nauwelijks detecteerbaar zal zijn.

De opkomst van genome editing zal de bestaande internationale verschillen in ggo-regelgeving meer expliciet aan het licht brengen, wanneer toepassingen van de techniek in sommige landen wel en in andere landen niet of anders gereguleerd worden. Het onderscheid tussen genetische modificatie en natuurlijke variatie of mutaties die van nature optreden is daarnaast bij genome editing niet altijd meer te maken. Detectie van toepassingen is theoretisch mogelijk, maar alleen als bekend is waarnaar gezocht moet worden. Daarmee zal detectie en daarmee handhaving van bestaande wet- en regelgeving praktisch en internationaal gezien problematisch worden.

De fokkerij en veredeling van (landbouw)huisdieren is zeer internationaal. Geslachtscellen (zaadcellen, eicellen en embryo's) worden wereldwijd verhandeld om de beoogde fokkerijdoelen te behalen. De VS en Canada zijn wereldwijd het grootst in deze handel op het gebied van runderen, gevolgd door Nederland. Door verschillen in regelgeving lijkt het onvermijdelijk dat toepassingen van genome editing via internationale handel uiteindelijk, bedoeld of onbedoeld, ook in Nederland terecht komen. Educatie en voorlichting van beroepsgroepen, zoals veeartsen en fokkers over deze ontwikkelingen zijn daarom van belang. Daarnaast is het van belang om in overleg te gaan met deze groepen om een vinger aan de pols te houden en te onderzoeken of het beleid nog voldoende aansluit op de ontwikkelingen.

7.2 Thema's maatschappelijk debat hetzelfde, de inhoud niet

Over zowel het gebruik van dieren als de toepassing van genetische modificatie bestaan cultureel en individueel uiteenlopende meningen en voorkeuren. Een eenduidige visie over de rol van dieren en welke toepassingen men aanvaardbaar of wenselijk vindt is onwaarschijnlijk. De houding van mensen ten opzichte van dieren is bovendien zeer ambigu. Vraagstukken over de relatie tussen mens en dier verschillen per context en kunnen voor hetzelfde dier in een andere context verschillen.

Toch zullen er besluiten genomen moeten worden over het gebruik en de regulering van genome editing bij dieren. Genome editing bij dieren zal naar verwachting tot verschuivingen leiden in het maatschappelijk debat. Sommige nieuwe toepassingen bieden naast voordelen voor de mens ook (relatieve) welzijn- en gezondheidsvoordelen voor het dier, terwijl andere toepassingen juist nadelige effecten voor diergezondheid en welzijn met zich meebrengen. In beide gevallen zullen deze toepassingen ook de bestaande praktijk opnieuw ter discussie stellen.

De thema's telos, integriteit, natuurlijkheid, instrumentalisering, dierenwelzijn en bestaande praktijk zijn terugkerende thema's in discussies over het gebruik van dieren. Door de aard van sommige toepassingen van genome editing (bijvoorbeeld zeer kleine puntmutaties die ook van nature kunnen optreden) zullen de gangbare begrippen in discussies over modificatie van dieren veranderen. Genome editing maakt het begrip natuurlijkheid bijvoorbeeld minder bruikbaar in een juridische en maatschappelijke context en vraagt om een verdere uitwerking van onderliggende waarden. Genome editing toepassingen bij dieren zullen consumenten, patiënten en burgers voor nieuwe keuzemogelijkheden stellen waar zij hun eigen afweging in moeten maken. Informatievoorziening over de wijze waarop producten tot stand komen is hierbij van belang. Voor toepassingen die nog niet eerder in de praktijk gebracht zijn, zoals xenotransplantatie, is het van belang om het maatschappelijke draagvlak hiervoor te onderzoeken en opinievorming te faciliteren.

7.3 Overleg en dialoog met stakeholders

Het tempo van de ontwikkelingen op het gebied van genome editing bij dieren vraagt om (inter)nationale afstemming over mogelijke grensoverschrijdende kwesties, om opinievorming en om voorbereiding op een verschuiving van de inhoud van het maatschappelijk debat over dieren. Nederland is een van de weinige landen die een wettelijke ethische toetsing kent voor biotechnologische toepassingen bij dieren. De commissie verantwoordelijk voor deze toetsing is echter niet actief, omdat dergelijke toepassingen tot nu toe geen rol spelen in Nederland. Als Nederland een dergelijke toetsing in stand wil houden, is het van belang om het doel en de taakstelling van een dergelijke commissie opnieuw onder de loep te nemen in het kader van de ontwikkelingen rondom genome editing bij dieren.

Deze toetsing geldt overigens niet voor import van gg-dieren en hun producten. Daarvoor geldt EU-regelgeving die – tot nu toe – geen ethisch toetsingskader kent. Een tijdige positiebepaling van overheid en betrokken stakeholders op mogelijke import van genome edited

dieren (bijvoorbeeld via de handel in geslachtscellen zoals zaadcellen, eicellen en embryo's) is van belang ter voorbereiding op deze ontwikkelingen. Hiervoor kan bijvoorbeeld aansluiting worden gezocht bij verschillende initiatieven in de fokkerijwereld die zich buigen over de wenselijkheid en richting van de veredeling van (landbouw)huisdieren. Het gezamenlijk exploreren van perspectieven met verschillende stakeholders is een belangrijke eerste stap om vervolgens een opinie en uiteindelijk standpunt te vormen die vervolgd kan worden in een internationale setting.

Andere toepassingen zoals milieu- en ecosysteemtoepassingen (bijvoorbeeld gene drives voor het bestrijden van infectieziekten of invasieve exoten), vragen om een multidisciplinaire aanpak van de risicobeoordeling. Vanuit beleidsoogpunt geldt dat dergelijke toepassingen waarschijnlijk niet geografisch beperkt zullen zijn, m.a.w. dat de verspreiding van gene drive organismen niet bij landsgrenzen ophoudt. Dit betekent dat eventuele Nederlandse beleidsmaatregelen beperkt effectief zullen zijn en internationale samenwerking en overleg nodig is wanneer toepassingen in omliggende landen aan de orde komen.

Daarom is het van belang dat overheid en beleidsmakers zich tijdig laten informeren door verschillende groepen stakeholders in verschillende settings en waar nodig samen met deze groepen oplossingsrichtingen zoeken voor geïdentificeerde knelpunten of verbeterpunten. Transparantie over het doel en de vorm van deze betrokkenheid en erkenning van wederkerigheid zijn bepalend voor een succesvolle stakeholderbetrokkenheid. Dit geldt niet alleen voor de initiatiefnemers, maar ook voor de deelnemers.

Bijlage A: Indicatie maatschappelijke dialoog: wie, wat, waar, waarom en hoe

In onderstaande tabel zijn maatschappelijke en ethische aspecten van genome editing bij dieren gekoppeld aan relevante stakeholdergroepen en doel, waarbij een indicatie van de dialoogagenda is gegeven. Dit is geen strikte of uitputtende indeling waaruit kan worden afgeleid welke groepen waarover wel of niet zouden moeten of mogen besluiten. Het geeft slechts een eerste indicatie van de fase van normatieve en pragmatische vraagstukken rondom genome editing bij dieren en welke betrokkenen daar in ieder geval een rol in zouden kunnen vervullen.

Maatschappelijke dialoog over genome editing bij dieren: wie, wat, waar, waarom en hoe

Thema	Betrokkenheid	Doel	Agenda
Natuurlijkheid	Zo breed mogelijk: Consumenten Belangenorganisaties dierenwelzijn, milieu, natuurbescherming, beroepsgroepen ...	1*	De aard van toepassingen maakt begrip natuurlijkheid minder bruikbaar in juridische en maatschappelijke context. Wat zijn de onderliggende waarden voor het gebruik van deze term en de daaraan gekoppelde probleempunten?
Mobilisatie potentieel	Zo breed mogelijk: Consumenten Belangenorganisaties dierenwelzijn, milieu, natuurbescherming, beroepsgroepen, overheid ...	1	De toepassing van genome editing bij dieren in combinatie met ecosysteem toepassingen kan mogelijk leiden tot felle maatschappelijke discussie. Waar zitten de pijnpunten en controverses?
Proportionaliteit	Zo breed mogelijk: Consumenten Belangenorganisaties dierenwelzijn, milieu, natuurbescherming, beroepsgroepen ...	1	Sommige nieuwe toepassingen bieden naast voordelen voor de mens ook (relatieve) voordelen vanuit oogpunt van dierenwelzijn, terwijl andere toepassingen juist een verdergaande instrumentalisering faciliteren. Het aftasten van de wenselijkheid en mogelijkheden van genome editing bij dieren door nut/-noodzaak discussie over het gebruik van dieren. Waar liggen de (eventueel nieuwe) grenzen?
	Beroepsgroepen	2**	De bepaling van de richting en doelen fokkerij en veredeling.

Snelheid	Overheid Beroepsgroepen Wetenschap	2	De snelheid van de ontwikkelingen en toename van geografische druk; Omgaan met internationale verschillen Importkwesties.
Complexiteit	Overheid transdisciplinaire wetenschap ...	2	Grensoverschrijdende milieu- en ecosysteemttoepassingen vragen om een transdisciplinaire aanpak van de risicoanalyse en internationaal overleg.
Onvermijdelijkheid	Overheid Beroepsgroepen Retail / consumentenorganisaties Biologische sector ...	2	Detectie van toepassingen is theoretisch mogelijk, maar praktisch en internationaal gezien problematisch. Wat zijn de knelpunten en mogelijke oplossingsrichtingen?

*Fase 1: Probleemstructurering: opinievorming & leerproces

**Fase 2: Identificatie oplossingsrichtingen: soft law & beleidsvorming

Bijlage B: Report on the symposium 'Gene editing in animals'

19 AND 20 OCTOBER 2017 IN AMSTERDAM

Why this symposium?

New gene-editing tools such as CRISPR/Cas9 make it easier to modify the genomes of animals. Since the first transgenic mouse was created in 1980, however, there has been an ongoing debate about the genetic modification of animals. During the symposium 'Gene editing in animals' on 19 and 20 October in Amsterdam, 160 animal scientists, regulators and other professionals gathered to discuss the current developments and the ethical and societal aspects linked to gene-edited animals. One of the main questions was: Should these animals still be considered GMOs?

Biotechnologists are working on animals such as cows without horns, virus resistant chickens, lambs with more wool and pigs for xenotransplantation. To obtain these animals they have been using gene editing technologies including CRISPR/Cas, that make it possible to precisely 'edit' one or a few DNA base pairs. CRISPR/Cas is seen as easier, cheaper and more precise than older techniques.

But gene-editing also raises questions. Important questions that came up during the meeting were to what extent do gene-edited animals need the same kind of regulation as genetic modified animals required 25 years ago? Does gene editing (always) result in genetic modification as defined in the law? And should gene editing in animals be regulated differently from gene editing in plants? 'In the Netherlands, genetic modification of animals is seen as a violation of their integrity,' said Sybe Schaap, chair of COGEM, at the opening of the symposium. Genetically modified animals are therefore only allowed for specific purposes where no alternatives exist. They may be used for biomedical research purposes, but are prohibited for recreation and sport.

Schaap emphasized that the new gene-editing technologies bring these premises into question. The modifications made to the genome with gene editing can be extremely small compared with previously used modification techniques. Besides, changes made by using CRISPR/Cas are also ones that could arise spontaneously in nature. Schaap: 'So should these animals still be considered GMOs?' No answers were provided during this symposium, but the discussion has clearly started. Schaap: 'Gene editing puts questions about the relationship between humans and animals back on the agenda.'

Breeding farm animals

Cows without horns

Genome-editing technologies have the potential to become the next ‘game changer’ in cow breeding, said animal scientist Han Mulder from Wageningen University & Research. His study, which he carried out together with animal breeding companies, found that genome editing can accelerate the introduction of the monogenic trait of ‘hornlessness’ in a population of dairy cows. Companies are eager to introduce this trait, which is rare in dairy breeds. At present farmers have to remove the horns to protect themselves and other cattle from injury. But this practice, which is painful for the cows, has come under increasing scrutiny from animal rights activists. To solve this problem, several laboratories have now edited the genomes of dairy cows to make them hornless. Mulder and his group calculated the breeding time and cost of using genetic selection only with the time and cost of using a smart combination of genetic selection and gene editing. ‘Gene editing results in an enormous increase in speed,’ Mulder said. Scientists who use gene-editing, are able to fix the allele for hornless in an elite population of Holstein cows in 2-5 generations, which is four times faster than it would take using only selection and results in less loss of useful polygenic traits. But there are challenges. The break even costs depend on the value of the desired phenotype and the target population size. Furthermore, detecting off-target edits is still quite time-consuming. Mulder also stressed that public dialogue is ‘very much needed’. Companies will probably be unwilling to use CRISPR-Cas9 as long as the cows are seen to be genetically modified cows.

Chickens producing eggs with more influenza vaccine

Tim Doran, a molecular biologist at CSIRO in Geelong, Australia, also concluded that gene-editing technologies can speed up the introduction of mutations that already exist in a species: the technology is precise and does not introduce deleterious or unwanted traits that can arise when traditional selective breeding is used. His group is working on chickens that produce eggs for enhanced influenza vaccine production. Since 1970, pharmaceutical companies are using chicken eggs to produce influenza vaccine. The yield of the vaccine, however, is still very low. To achieve eggs with higher vaccine yields, the group deleted a small part of a specific chicken gene to remove inhibitors of vaccine growth.

But, before being able to do this editing, the group had to solve a problem that is specific to birds. Because egg cells are difficult to access while still inside the hen, CRISPR elements cannot be injected directly into the egg cells itself. To get around this, the researchers now use Primordial Germ Cells (PGCs) – immature cells that eventually turn into sperm or egg cells. They remove these cells from the blood, edit the genome and then put them back into the developing chicken in an early stage. They can also edit cells by injecting the CRISPR elements directly into the blood. Doran is also using these germ cells to create chickens that produce eggs without the proteins that cause egg-allergies (2.5 % of Australians have this allergy) and chickens that are resistant to a virus.

Tan sheep with higher body weight

‘The future Tan sheep will grow faster, have a short tail and be hornless’, animal scientist Xiaolong Wang predicted. His group, of Northwest A&F University Yangling in Chi, has created sheep and goats with higher body weight, higher meat quality and increased hair length to help improve the growing livestock husbandry sector in China. The group has edited genes from the indigenous Tan sheep by injecting one-cell-stage embryos with Cas9 mRNA and sgRNAs. These CRISPR elements, called nucleases, disrupted one or several genes with known functions: e.g. MSTN for muscle growth, FGF5 for fibre growth and BMPR1B and GDF9 for fecundity.

However, public debate is important in China too, Wang said. Despite the fact that hundreds of Chinese laboratories are working on GM animals and plants, there are still only two GM crops on the market: a cotton cultivar (1997) and a papaya cultivar (2006). ‘It will take a long time before the public will accept these new GM sheep,’ Xiaolong said. Public attitude can be influenced by ethical issues or by uncertainties about safety. One of the safety concerns is off-target mutations. So to provide a foundation to this safety question, his group studied the off-target mutations from 50 CRISPR sheep and goats including single nucleotide polymorphisms (SNPs) and deletions in the whole genomes. They found no detectable off-target modifications that could be attributable to the injected CRISPR elements.

Virus resistant sheep and sheep as a model for human diseases

Alejo Menchaca, a biotechnologist at the Institute of Animal Reproduction Uruguay, also works on sheep. His laboratory has created sheep that combine traits from the Australian Merino sheep (superfine wool) and the Dutch Texel sheep (good meat quality). Menchaca confirmed that the CRISPR/Cas system has become a relevant tool for sheep breeding. His laboratory is also breeding sheep that are resistant to Jaagsiekte sheep retrovirus, a virus that causes lung cancer in sheep. The disease have been called Jaagsiekte, after the Afrikaans words for “chase” (*jaag*) and “sickness” (*siekte*), to describe the respiratory distress observed in an animal out of breath from being chased, indicating the breathing difficulty experienced by infected sheep. To make them resistant, elements from the CRISPR-Cas system were injected into zygotes to obtain a mutation in the gene that is responsible for the receptor protein that recognizes the Jaagsiekte sheep retrovirus. Without this receptor, virus infection is not possible. Fifteen lambs with this mutation were born this summer, the group is now testing their resistance.

Menchaca is also working on another application: sheep as models for human diseases. In October 2017, 35 deaf GM lambs were born with a mutation that causes a specific genetic type of deafness that also occurs in humans. These sheep may be used to test therapies. ‘Our models will have practical implications in the field of livestock production, animal health and medicine,’ Menchaca concluded. But technical challenges still lie ahead. The success rate of the transformation and pregnancies (from the transferred embryos) is still quite low: the laboratory needed more than 300 embryos and 86 recipient sheep to produce the 35 deaf GE CRISPR lambs.

CRISPR/Cas: not so easy to communicate

‘So if you say that the CRISPR technology is more precise,’ a science journalist commented during the discussion, ‘then you have to be specific about what exactly is more precise.’ Menchaca agreed, and said that he wished he could speak more often with science journalists. ‘Help me to communicate better.’ Another question from the audience was how long it is likely to take from the birth of a first gene edited animal to an animal reaching the market. According to the researchers, it would take 10 years to set up a population of hornless cows that would be big enough to produce for the market. For gene edited chickens this would only take two years. But a participant from a company voiced reservations: companies are not so eager to invest in this technology. This is not only because the authorization process can take years (gene edited animals are still regarded as GMOs), but also because the monogenetic mutation that Doran’s first virus-resistant chicken had could be less sustainable. ‘We have seen this also in plants: you do a massive amount of work and then the virus adapts itself to the mutation.’ This is the reason another participant gave for preferring to focus on ‘polygenetic robustness and tolerance’ instead of virus resistance based on mutations in a receptor gene.

Eradicating pests

Further global trade and climate change will lead to more invasive species including pest species. So new methods to combat pest species are very welcome. During this symposium, it became clear that laboratories can use CRISPR/Cas not only to accelerate farm-animal breeding, but also for the eradication of pest species. Governments could use this method to eradicate a pest in a particular area, such as mice on a tropical island or malaria mosquitoes in East Africa. The pest animals are given a ‘gene drive’: a construction based on CRISPR/Cas9 that accelerates the spread of a specific trait among a population, for instance disease resistance or male or female sterility.

Malaria mosquitoes with a *gene drive*

The international ‘Target Malaria’ programme, financed by the Gates Foundation, is using this gene-drive technology to obtain sterile male mosquitoes. ‘The current methods won’t enable us to eliminate the malaria mosquito’ said Samantha O’Loughlin from Imperial College London. Gene drive might be a method to realize this goal. The teams are testing mosquitoes with a gene drive in laboratories (England and Burkina Faso) and in large cages (Italy). And Mali and Uganda want to start with laboratory experiments.

Gene drives, however, are raising concerns that the technology is too powerful, as it would theoretically enable researchers to eradicate a species on a global level. Scientists, NGOs, regulatory authorities and the media have all been warning about this danger since the idea for this technology arose in 2013. As a result, Target Malaria is employing a step-wise, multi-disciplinary approach for the transition from lab to field. The interdisciplinary teams in the different countries are not only involved in technical and safety issues, but also in regulatory issues, science communication and community engagement on all levels – from

international to national and local levels. ‘We want to ensure that all concerns from stakeholders can be addressed in a transparent and systematic way,’ O’Loughlin said.

Jianghong Min from MIT Media Lab (US) described how his lab has developed DNA technology to control spread of a gene drive on a global level. ‘We are in need of technologies that can limit the geographical spread of gene-drive organisms, as deployment of global drive systems ought to be reserved for only the most extreme of circumstances,’ he said. The team has therefore developed locally confined drive systems: by adapting the design of a specific CRISPR construct, a laboratory can ‘build in’ the number of generations for which the gene drive will spread the trait. The group is now testing their constructs in nematodes.

Eradicating house mice on islands

Some nature conservation organizations are against the use of CRISPR-based gene-drive constructions because of the perceived risks; others want to find out whether the technology can be used to eradicate exotic invasive animals. Now exotic animals are often poisoned, or shot off, but these methods have severe disadvantages.

A huge problem for nature conservation are rodents on tropical islands. ‘Mice on islands attack young birds such as albatrosses, and are therefore partly responsible for the extinction of birds,’ explained John Godwin, a scientist at North Carolina State University in the US. His organization, Genetic Biocontrol of Invasive Rodents, is an international partnership made up of six research centres and a nature conservation organization, Island Conservation. The partnership is trying to solve the problem using CRISPR-based gene drive technology. The researchers are now producing house mice that spread the trait of sterility. The goal is to reduce reproduction and potentially eliminate invasive rodent populations on islands.

‘Carefully assessing this potential, however, is important,’ said Godwin. ‘You can test the mice in small cages, but this doesn’t provide a complete picture for the field situation.’ In the field, there are many more variables that are of influence on a population. So the researchers first want to test the mice in simulated natural environments measuring 30 x 30 feet (9 x 9 metres). The partnership is committed to being overseen by an external ethics advisory committee and to early and sustained engagement with stakeholders, island communities and regulatory authorities.

Could local communities decide?

Philosopher Jeantine Lunshof, of the University of Groningen and Harvard Medical School, raised the question of who should make decisions about gene drives? On a global or even national level, stakeholders are unlikely to agree about the (possible) advantages and the risks. So should local communities decide, and if so, how do you organize such a process? Lunshof is an advisor on an MIT-project that is trying to combat Lyme disease on two islands in the US: Martha’s Vineyard and Nantucket. Lyme disease is spread by ticks that are carried by mice, and now the biotechnologists have bred mice that are immune to the ticks.

Releasing these mice might help solve the problem of Lyme disease. The biotechnologists have made immune GM mice with and without a gene drive (the latter will spread the new trait quicker, so this intervention might be cheaper and easier). The island residents are now deciding whether they want these GM mice, and if so, do they want mice with or without a gene drive? The laboratory will design a mouse in accordance with their (ethical) preferences.

‘We have developed a model for Responsive Science,’ Lunshof explained. ‘This is a way of conducting research that invites community involvement from the earliest stages of each project.’ The continuous interaction between scientists and citizens allows concerns to be identified before experiments are performed. In addition, it encourages new technologies to be redesigned in response to societal feedback. Developing DNA constructs that limit the geological spread of gene-drive organisms, as explained by Min, is also an example of adapting a technology in response to ethical concerns.

Interaction with citizens full of pitfalls

During the discussion, several participants stressed the need for better interaction between scientists and citizens. Philosopher John Dupré from the University of Exeter, however, foresaw problems concerning communication about CRISPR-based technologies. When explaining what the technologies could mean for society, scientists and science journalists tend to use metaphors for the genome such as ‘blueprint’, ‘recipe’ and ‘book of life’. ‘But these terms suggest a genetic programme for the different traits,’ Dupré said. ‘As if, in a magical thinking, you change a gene and the new trait appears. But that’s quite misleading: a genome is not a static entity, but constantly changing in a dynamic interaction with the environment.’ So we need a more sophisticated understanding, and communication, of what genome editing is.

Dupré also stressed the importance of discussing the bigger picture when talking about the advantages and risks of the new CRISPR technology. For instance, when it comes to hornless cows, we can say that gene editing is good for animal welfare because the farmer doesn’t need to remove the horns anymore, which is quite painful. But are hornless cows really needed for sustainable food production? We should also discuss the fact that the same intensive cattle rearing industry that is pushing for hornless cows has many disadvantages for the environment and animal welfare. So wouldn’t it be better to search for alternative methods of food production?

Large animals for xenotransplantation and disease models

A solution for the current shortage of kidney and heart transplants in hospitals could be xenotransplantation, the transplantation of organs from animals. Decades of scientific setbacks has kept clinical trials of this approach on the horizon. Gene editing, however, increases the possibilities for xenotransplantation. This is because the animal in which the (human or pig) organ has to be grown, can easier be made immune compatible with hu-

mans. Improved technologies to modify pluripotent germ cells are also bringing xenotransplantation closer to clinical practice.

Pig-human chimeras

Scientists can use CRISPR/Cas, and other new technologies, to develop chimeras – animals that can produce human organs for transplants. American laboratories have already made a few mouse-rat chimeras and the oldest one is now 24 months. Juan Carlos Izpisua Belmonte, a biotechnologist at the Salk Institute for Biological Studies in the US, showed a picture of his two-year-old chimeric ‘rat-mouse’ or ‘mouse-rat’. ‘In the lab I say mouse, but I really don’t know what it is,’ he added. Belmonte explained how his group has created mice embryos that have rat organs. Using the gene-editing tool CRISPR/Cas9, the researchers disabled several genes involved in heart and eye development so that the mice would not grow functioning mice versions of those organs. Rat stem cells introduced into mouse embryos filled in for these, growing functional organs, including one the researchers didn’t expect. Rats don’t have gallbladders, but rat stem cells introduced into mice embryos are able to form gallbladders.

Belmonte has also succeeded in producing pig embryos that have incorporated a small number of human cells. However no functional organs were formed, possibly due to the shorter development time of the pig embryo compared to human embryos. The group is also trying to introduce human cells into horse embryos. The Salk researchers aim to use CRISPR/Cas9 to engineer farm animals that lack certain organs just as they did with rodents. Human cells able to supply the missing organs might then have a growth advantage and survive better. For ethical reasons, the group is developing genetic tools to prevent human cells from integrating in the brain of the recipient animal.

But how can laboratories monitor the welfare of chimeras, one of the participants asked. ‘There are no classifications or protocols for these new animals.’ Belmonte agreed that his laboratory has to develop welfare guidelines for chimeras, together with regulators. ‘At the moment, however, these first chimeras are perhaps the best treated animals in the world.’

Pigs as disease models

Angelika Schnieke, from the Technical University of Munich, stressed that gene editing improves the possibilities for xenotransplantation, but it can also be used to create farm animals as disease models. ‘Large animal models of human diseases can bridge the gap between basic biomedical research in rodents and the translation of new knowledge into clinical practice to improve diagnosis and treatment.’ Pigs, horses and cows are anatomically and physiologically more similar to humans than rodents in a number of ways. Their immune systems are more similar and they have a longer lifespan than rodents. Schnieke showed how laboratories throughout the world have already made twenty porcine models including models for various types of cancers, cardiovascular diseases, diabetes mellitus and neurodegenerative diseases such as Alzheimer’s diseases. Gene editing has enormously accelerated the speed of this process. ‘We can have a new animal model in a couple of

weeks or months.' For the pancreatic cancer model, her group mutated three genes that were known to be involved in pancreatic cancer in humans. They applied the modifications in both pigs and mice. Whereas the CRISPR pig developed this cancer as predicted, mice with these three mutations did not. This strengthens the argument that animals such as pigs are better disease models for humans.

The Technical University of Munich is doing work on xenotransplantation as well: they transplant pig organs to other species. Schnieke's laboratory has successfully transplanted a pig heart from a gene-edited pig into a baboon. In September, the researchers announced that they had nearly doubled the previous survival record for a life-saving pig heart transplant in a baboon to 90 days – at that age the baboon was still healthy. Three months might be long enough for regulators to permit clinical trials in humans, so the group is therefore working to repeat the results in more baboons. In order to increase the likelihood of the pig organs being accepted by the body of the patient, tens of pig genes have to be edited. The German researchers modify genes that are involved in hyper-acute rejection, vascular rejection and cellular rejection.

More mice models than ever

Michael Wiles from the Jackson Laboratory in the US stressed the many advantages this technology offers for creating disease models in mice. To test a gene-disease hypothesis in mice now costs 90 per cent less and takes less than a quarter of the time that it previously took. Besides, laboratories can now modify any species, they can regulate the expression of genes (epigenetics), and they can refine or adapt the genetics of a mouse model in response to new insights into the disease. 'It is much quicker and more efficient to use CRISPR technology to alter a fertilized egg and thus engineer a mouse than the traditional route, which starts by modifying an embryo cell.' One of the results, however, is that pioneers in garages, with less money and expertise than certified laboratories, can also change the genetics of species. According to Wiles, CRISPR and similar technology will change society. 'Perhaps having our genetic destiny within our hands is a next enabling evolutionary step.' One of the participants asked what role Wiles sees for himself as a biotechnologist in addressing ethical issues. In response Wiles described a project in a small country that he declined to participate in because gene editing did not seem to be the best solution for the problem (diminished fertility due to inbreeding).

Monkeys for disease models

Primates are closely related to humans and known to be probably the most representative disease model for research. In Europe however, the possibilities for using monkeys to develop disease models are limited because of ethical concerns. Weizhi Ji, from the Yunnan Key Laboratory of Primate Biomedical Research in Kunming (China), however, emphasized the importance of using monkeys. He believes Non Human Primates (NHPs) are an ideal model for complex human diseases. 95% of our genome sequence is similar to that of monkeys, whereas we share only 84% of our genome with rodents or pigs. In addition, our minds are more similar to those of primates than to those of rodents, which could help advances in

the neurosciences. It is much easier to bring about changes in monkeys by using CRISPR than it is with older genetic technologies. In the five years between 2001 and 2016, only six conventional GM-monkey disease models were published, while 11 gene-edited monkey models have been published in the last three years, including a monkey with autism.

Weizhi's institute has made a monkey with Rett Syndrome (RTT) by mutating one gene (called *Mecp2*). Children with this severe monogenetic disease show impaired development and have a lot of pain; they are prone to infections and they lose language and motor skills. Weizhi showed that the phenotype of the rodent RTT model is different from that of human patients, but the phenotype of the monkey RTT model is comparable to that of humans. For example, most girls and most female monkeys survived, and most boys and male monkeys with the mutation resulted in abortion during pregnancy (in humans RTT affects mainly girls). Rodents showed no gender differences. And compared with humans, rodents displayed completely different social behaviour, whereas monkeys evolved more similar social behaviour. Weizhi: 'Monkey models are therefore very helpful for understanding diseases as well for drug screening and clinical therapy.'

In Europe, however, it is likely to be difficult to obtain permission for performing behaviour experiments with (genetically modified or gene edited) monkeys. Other participants stressed that in all cases laboratories will first need rodents to find out which technologies or therapies are the best.

Bringing back extinct animals

Many conservation programmes have saved iconic birds and other species from extinction through interventions such as captive breeding and the reintroduction of endangered species in an area. Nature conservationists in the Netherlands, for example, introduced primitive 'Heckrunderen' in the Oostvaardersplassen thirty years ago. These Heckrunderen were created around 1930 by the German breeder Lutz Heck. He crossed indigenous cattle with specific 'primitive' traits in breeds from Hungary, Corsica, Scotland and Spain. CRISPR/Cas could also enable re-introduction of extinct animals.

Reintroducing a pigeon in the eastern US

Ben Novak is a scientist at Revive & Restore, an international organization for the genetic rescue of endangered and extinct species, based in California. He explained how his organization is trying to bring back the North American passenger pigeon and heath hen, using CRISPR and other biotechnologies developed for chickens. The passenger pigeon is an iconic species in the eastern part of the US. Before they were shot down in large numbers in the nineteenth century, the passenger pigeon population numbered billions. Their disappearance from the skies was a sign that even the most abundant of natural resources could be exhausted by unchecked human consumption, heralding a new age of conservation regulation and game management. Reintroduction of the passenger pigeon may also help restore forest biodiversity in the eastern US.

To 'revive' the extinct bird, the organization plans to edit the germ-line of living band-tailed pigeons according to genes for ancestral traits that have been found in the genome of a passenger pigeon from a museum. Next steps will include breeding the edited band-tailed pigeon/passenger pigeon in captivity, reintroducing these new 'hybrids' into the wild after proper conditioning, and monitoring. Novak stresses that 'de-extinct' species will not be transgenic or genetically modified. 'They most closely resemble selectively bred hybrids.' According to Novak, many species and environments would benefit from such restoration. But who decides what kind of landscape or ecosystem we want, one of the participants asked. Passenger pigeons were once part of a specific natural landscape in the eastern US, but farmers today might regard passenger pigeons as a pest. Moreover, the disappearance of the passenger pigeon might have stimulated the rise of other species which flourish in another natural landscape. 'Our view of nature and what is natural will keep changing,' this participant remarked. Revive & Restore, however, sees the advantage of bringing back the passenger pigeons not in restoring a specific form of ancestral nature, but in providing measurable ecological services such as enlarging the biomass in forests.

How should we regulate gene-edited animals?

Definition of GMO

One of the major questions that arose during the symposium was how: should we define a GMO? 'It is really tough to come up with a definition,' one of the participants declared. 'Using CRISPR you can change just one or two base pairs, but also tens, hundreds or thousands of base pairs. The mutations may be similar to what could happen in nature, but they can also result in brand new organisms.'

According to Alison Van Eenennaam from the University of California, regulators should restrict themselves to the risks of a product, regardless of the way they are made. But that is not the way it works in the United States, she explained. In January, the FDA announced a draft guideline that classifies all gene-edited animals that have had their genomes intentionally altered as drugs. This means that the authorization process can take years. That was the case with the AquaBounty's fast growing GM-salmon, so far the only GM-animal that has made it to the agricultural world market. It took almost 30 years from the initial production of this salmon at the University of Toronto to obtaining Canadian Government approval for its sale in Canada. The company has already spent 16 million dollars on the regulation processes. Because it will often be impossible to distinguish between natural mutations and intentionally altered base pairs, the new FDA guidelines will be unworkable, Van Eenennaam predicted. Her own group has also created CRISPR cows without horns. The mutations in these cows are similar to the mutations that produce hornless cows when traditional breeding techniques are used. In the Netherlands regulation on animal biotechnology is also based on ethical and social issues. Van Eenennaam, however, sees no advantage to including these issues. 'That would open up a lot of uncertainty. Ethical and social issues should be part of broader discussions about food production, and companies can use labels to let the public choose.'

Regulation that stimulates innovation

Ann Bruce, an innovation researcher at the University of Edinburgh, proposed another idea for regulation: 'adaptive governance'. 'CRISPR/Cas9 is a first step in a new direction', she explained. 'It is a novel technology, and, as scientists and companies are unlikely to have exhausted all ideas for its use, we might underestimate the impact in the long term.' Regulatory authorities could therefore go for stepwise regulation including 1) pre-regulatory standards; 2) pre-regulatory guidelines (these are already more formal); 3) regulation, and 4) post-regulatory standards and guidelines to support compliance with regulation. According to Bruce, a regulatory system for a 'new' technology should take into account four aspects: the innovation strategies of companies, the extent to which innovations could respond to currently unmet social needs, innovativeness of particular sectors of industry, and geographic location and scale of operations. In this way, the regulation process could encourage positive changes in industry and distinguish between products on the basis of social and economically relevant criteria.

Bruce also mentioned some disadvantages of not regulating CRISPR animals. 'Companies could then be open to accusations of 'hiding' the new technology, and if you are hiding something, it must be bad.' From the debates on GM plants she learned that the first products to reach the market are likely to frame the CRISPR technology. Unfortunately, the first products are not necessarily the most socially desirable applications, the first GM plant being a good example: Monsanto's herbicide soy. What might make it even more difficult to introduce CRISPR animals onto the market is that conventional livestock farming already has a bad image, at least in the UK. This can lead to unexpected reactions: biotechnologists show the advantages of hornless cows, and the public is shocked to learn that horn-cutting is a practice and starts criticizing current, industrialized farming. Bruce: 'So my question is also: how might gene editing help deliver alternative systems, with an emphasis on local production and breeds adapted to local conditions, and with an emphasis on animal welfare and reduced environmental impact? Are there alternative, innovative pathways for the current pathways?'

GM animals back on the agenda

'I don't dare to summarize what we have discussed,' concluded Frans Brom, chair for the day and member of the Dutch Scientific Council for Government Policy at the end of the symposium. He therefore came up with three remarks: The first one was that gene editing could be a game changer: it can lead to new laboratories, new companies, new people and new discussions in animal breeding, medicine and nature conservation. The second one? The relationship between animals and humans is back on the agenda. 'Some of the ethical issues are new', Brom said, 'and they are being discussed on a global level.'

His third remark, finally, was that regulation is back on the agenda too. Rules and practices developed in the early phase of genetic modification are no longer suitable for the current DNA-technology in its mature state: in the early phase, genetic modification was only feasible for a few prosperous laboratories; now CRISPR can be used much more widely and

by anyone. Brom: 'So the question we have to answer again is how should we organize the regulation of this kind of technology?'

© Cogem, December, 2017

Text: Marianne Heselmans, science writer

Referenties

1. COGEM (2014). CRISPR-Cas, revolutie uit het lab. COGEM signalering en advies CGM/141030-01
2. COGEM (2009). Zinkvinger aan de pols. Ontwikkelingen en implicaties van de zinkvingertechnologie. COGEM signalering CGM/090616-02
3. COGEM & Gezondheidsraad (2016). Trendanalyse biotechnologie 2016. Regelgeving ontregeld. COGEM, Bilthoven
4. COGEM & Gezondheidsraad (2017). Ingrijpen in het DNA van de mens, morele en maatschappelijke implicaties van kiembaanmodificatie. COGEM, Bilthoven
5. Sikora P *et al.* (2011). Mutagenesis as a tool in plant genetics, functional genomics and breeding. *Int. J. Plant Genomics*. 2011: 314829
6. Gordon J and Ruddle F (1981). Integration and stable germ line transmission of genes injected into mouse pronuclei. *Science*. 214 (4526): 1244-6.
7. COGEM (2005). Transgene muggen als wapen in de strijd tegen malaria. COGEM signalering CGM/050202-05
8. COGEM (2012). Genetisch gemodificeerde dieren: gewilde en ongewilde werkelijkheid. COGEM signalering CGM/120111-01
9. COGEM (2006). Illegale import van genetisch gemodificeerde zebravissen. COGEM advies en signalering CGM/061219-01
10. COGEM (2014). GGO's te kijk gezet: het gebruik van genetisch gemodificeerde organismen in tentoonstellingen. COGEM signalering CGM/141219-01
11. Commissie Biotechnologie bij Dieren, Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek, COGEM (2004). Trendanalyse biotechnologie 2004. Trends in de biotechnologie en hun mogelijke betekenis voor de maatschappij. COGEM, Bilthoven
12. Commissie Biotechnologie bij Dieren, COGEM, Gezondheidsraad (2007). Trendanalyse biotechnologie 2007. Kansen en keuzes. COGEM, Bilthoven
13. COGEM, Gezondheidsraad, Commissie Biotechnologie bij Dieren (2009). Trendanalyse Biotechnologie 2009. Mondiaal momentum. COGEM, Bilthoven
14. European Medicines Agency (2009). Summary of the European public assessment report (EPAR) for ATryn. EMA, 25 augustus 2009
15. European Medicines Agency (2010). Summary of the European public assessment report (EPAR) for Ruconest. EMA, 8 november
16. Keulemans M (2016). Omroep BNN laat Nederlandse hond klonen in Zuid-Korea. *De Volkskrant*, 24 oktober 2016
17. Cryozootech. URL: www.cryozootech.com (bezocht: 26 maart 2018)
18. The Journal.ie. (2015). Remember Dolly? There may not be another as EU steps closer to full cloning ban. *The Journal*, 11 september 2015
19. Shukman D (2014). China cloning on an 'industrial scale'. *BBC news*, 14 januari 2014
20. Michel J (2014). US company in Iowa churns out 100 cloned cows a year. *The Tico Times*. 29 juni 2014
21. Trans Ova Genetics. URL: www.transova.com/services/viagen-cloning-gp (bezocht: 26 maart 2018)
22. U.S. Food & Drug Administration. URL: <https://www.fda.gov/AnimalVeterinary/DevelopmentApprovalProcess/GeneticEngineering/GeneticallyEngineeredAnimals/ucm280853.htm> (bezocht: 26 maart 2018)
23. Government of Canada. URL: www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/approved-products/aquadvantage-salmon.html (bezocht: 26 maart 2018)
24. Kupper F (2009). Democratizing animal biotechnology. Inquiry and deliberation in ethics and governance. Academisch Proefschrift, Vrije Universiteit Amsterdam. Box Press, Oisterwijk, The Netherlands
25. Struik P *et al.* (2016). Respect voor wat wij eten; omgaan met de spanning tussen natuurlijke aard en menselijk nut van landbouwhuisdieren en cultuur. Discussienota (bezocht: 26 maart 2018)
26. Bovenkerk B *et al.* (2002). Brave new birds: the use of 'animal integrity' in animal ethics. *Hastings Cent. Rep.* 32:16-22
27. Dierenwelzijnsweb. URL: www.dierenwelzijnsweb.nl/nl/dierenwelzijnsweb/dierenwelzijn/waarden.htm (bezocht: 26 maart 2018)
28. Schultz-Bergin M (2018). Is CRISPR an ethical game changer? *J. Agric. Environ. Ethics* 31(2): 219-238
29. European Commission. URL: https://ec.europa.eu/food/animals/welfare_en (bezocht: 26 maart 2018)
30. Tan W *et al.* (2016). Gene targeting, genome editing: from Dolly to editors. *Transgenic Res.* 25: 271-287
31. Gerlai R (2016). Gene targeting using homologous recombination in embryonic stem cells: The future for behavior genetics? *Front. Genet.* 7: 43
32. Capecchi MR (2005). Gene targeting in mice: functional analysis of the mammalian genome for the twenty-first century. *Nat. Rev. Genet.* 6: 507-12
33. Takahashi K & Yamanaka S (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663-676

34. Li Z & Engelhardt JF (2003). Progress toward generating a ferret model of cystic fibrosis by somatic cell nuclear transfer. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 1: 83
35. Menchaca A *et al.* (2016). New insights and current tools for genetically engineered (GE) sheep and goats. *Theriogenology* 86: 160-169
36. Kou Z *et al.* (2015). CRISPR/Cas9-mediated genome engineering of the ferret. *Cell Res.* 25: 1372-1375
37. Megget K (2016). The cutting edge of gene editing. *Chemistry World*, 22 januari 2016
38. Niemann H & Petersen B (2016). The production of multi-transgenic pigs: update and perspectives for xenotransplantation. *Transgenic Res.* 25: 361-374
39. Ni W *et al.* (2014). Efficient gene knockout in goats using CRISPR/Cas9 system. *PLoS One*, 9 p. e106718
40. Kim YG *et al.* (1996). Hybrid restriction enzymes: zinc finger fusions to FokI cleavage domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 1156-1160
41. Christian M *et al.* (2010). Targeting DNA double-strand breaks with TAL effector nucleases. *Genetics* 186: 757-761
42. Jinek M *et al.* (2012). A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337: 816-821
43. Ledford H (2018). Powerful enzyme could make CRISPR gene-editing more versatile. *Nature News*, 28 februari 2018
44. Hu JH *et al.* (2018). Evolved Cas9 variants with broad PAM compatibility and high DNA specificity. *Nature* 556 (7699): 57-63
45. Barrangou R & Doudna JA (2016). Applications of CRISPR technologies in research and beyond. *Nat. Biotechnol.* 34: 933-941
46. Doran TJ *et al.* (2016). Advances in genetic engineering of the avian genome: 'Realising the promise'. *Transgenic Res.* 25: 307-319
47. Van de Lavoie MC *et al.* (2006). Germline transmission of genetically modified primordial germ cells. *Nature* 441: 766-769
48. Tyack SG *et al.* (2013). A new method for producing transgenic birds via direct in vivo transfection of primordial germ cells. *Transgenic Res.* 22: 1257-1264
49. Schnieke AE *et al.* (1997). Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts. *Science* 278: 2130-2133
50. Cyranoski D (2015). Gene-edited 'micropigs' to be sold as pets at Chinese Institute. *Nature News*, 29 september 2015
51. Li F *et al.* (2014). Production of GHR double-allelic knockout Bama pig by TALENs and handmade cloning. *Yi Chuan* 36: 903-911 [Chinees artikel]
52. Regelado A (2015). Rewriting Life: first gene-edited dogs reported in China. *MIT Technology Review*, 19 oktober 2015
53. Murgia M (2015). Chinese scientists create 'designer dogs' by genetic engineering. *The Telegraph*, 20 oktober 2015
54. Rosenblum A (2017). Rewriting Life: a biohacker's plan to upgrade Dalmatians ends up in the doghouse. *MIT Technology Review*, 1 februari 2017
55. Bates Ramirez V (2017). Would you want a dog that was genetically engineered to be healthier? *SingularityHub*, 26 februari 2017
56. U.S. Food & Drug Administration (2017). FDA's science-based approach to genome edited products. FDA, 18 januari 2017. URL: <https://blogs.fda.gov/fdavoices/index.php/2017/01/fdas-science-based-approach-to-genome-edited-products/> (bezocht: 26 maart 2018)
57. Sovová T *et al.* (2017). Genome editing with engineered nucleases in economically important animals and plants: state of the art in the research pipeline. *Curr. Issues Mol. Biol.* 21: 41-62
58. Laible G *et al.* (2015). Improving livestock for agriculture – technological progress from random transgenesis to precision genome editing heralds a new era. *Biotechnol. J.* 10: 109-120
59. Website ALH genetics. URL: www.alh-genetics.nl/ (bezocht 9 april 2018)
60. Rauw WM *et al.* (1998). Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. *Livestock Production Science* 56: 15-33
61. Eriksson S *et al.* (2018). Invited review: breeding and ethical perspectives on genetically modified and genome edited cattle. *J. Dairy Sci.* 101: 1-17
62. Raad voor Dierenaangelegenheden (2016): Fokkerij en voortplantingstechnieken. *Zienswijze*, RDA.2015.017
63. Proudfoot C *et al.* (2015). Genome edited sheep and cattle. *Transgenic Res.* 24: 147-153
64. Wang K *et al.* (2015). Efficient generation of myostatin mutations in pigs using the CRISPR/Cas9 System. *Sci. Rep.* 5: 16623
65. Qian L *et al.* (2015). Targeted mutations in myostatin by zinc-finger nucleases result in double-musled phenotype in Meishan pigs. *Sci. Rep.* 5: 14435
66. Crispo M *et al.* (2015). Efficient generation of myostatin knock-out sheep using CRISPR/Cas9 technology and microinjection into zygotes. *PLoS One* 10: e0136690
67. Wang X *et al.* (2015) Generation of gene-modified goats targeting MSTN and FGF5 via zygote injection of CRISPR/Cas9 system. *sci report* 5:13878
68. Ishii T (2017). Genome-edited livestock: ethics and social acceptance. *Animal Front.* doi:10.2527/af.2017.0115
69. Proudfoot C *et al.* (2015). Genome edited sheep and cattle. *Transgenic Res.* 24: 147-153
70. Hu R *et al.* (2017). Generation of FGF5 knockout sheep via the CRISPR/Cas9 system. *J Anim Sci.* 95: 2019-2024
71. Zhang X *et al.* (2017). Disruption of the sheep BMPRII gene by CRISPR/Cas9 in in vitro-produced embryos. *Theriogenology* 91: 163

72. Lai S *et al.* (2016). Generation of knock-in pigs carrying oct4-tdtomato reporter through CRISPR/Cas9-mediated genome engineering. *PLoS ONE* DOI:10.1371/journal.pone.0146562
73. Ruan J *et al.* (2015). Highly efficient CRISPR/Cas9-mediated transgene knock-in at the H11 locus in pigs. *Sci Rep.* 5: 14253.
74. Gezondheidsdienst voor Dieren. URL: www.gddiergezondheid.nl/diergezondheid/dierziekten/mastitis-rund (bezocht: 26 maart 2018)
75. Veearts.nl. URL: <http://www.veearts.nl/dierziekten/mastitis> (bezocht: 26 maart 2018)
76. Liu X *et al.* (2014). Generation of mastitis resistance in cows by targeting human lysozyme gene to - casein locus using zinc-finger nucleases. *Proc.R. Soc. London B* 281, 20133368
77. Briggs H (2017). 'Tuberculosis-resistant' cattle developed in China. *BBC news*, 1 februari 2017
78. Wu H *et al.* (2015). TALE nickase-mediated SP110 knockin endows cattle with increased resistance to tuberculosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 112: E1530-9
79. Bevacqua RJ *et al.* (2016). Efficient edition of the bovine PRNP prion gene in somatic cells and IVF embryos using the CRISPR/Cas9 system. *Theriogenology* 86: 1886-1896
80. Meuwissen MP *et al.* (1999). A model to estimate the financial consequences of classical swine fever outbreaks: principles and outcomes. *Prev. Vet. Med.* 42: 249-270
81. Gezondheidsdienst voor Dieren. URL: www.gddiergezondheid.nl/diergezondheid/dierziekten/klasseke-varkenspest (bezocht: 26 maart 2018)
82. Carlson DF *et al.* (2012). Efficient TALEN-mediated gene knockout in livestock. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 109: 17382-17387
83. Lillico SG *et al.* (2013). Live pigs produced from genome edited zygotes. *Sci. Rep.* 3: 2847
84. Whitworth KM *et al.* (2016). Gene-edited pigs are protected from porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Nat. Biotechnol.* 34: 20-22
85. Burkard C *et al.* (2017). Precision engineering for PRRSV resistance in pigs: macrophages from genome edited pigs lacking CD163 SRCR5 domain are fully resistant to both PRRSV genotypes while maintaining biological function. *PLoS Pathog.* 2017 13: e1006206
86. Gezondheidsdienst voor Dieren. URL: www.gddiergezondheid.nl/diergezondheid/dierziekten/aviaire-influenza (bezocht: 26 maart 2018)
87. Veearts.nl. URL: <http://www.veearts.nl/dierziekten/aviaire-influenza> (bezocht: 26 maart 2018)
88. Wageningen University & Research (2014). Schade vogelgriep 10 mln. per week. *WUR nieuws*, 26 november 2014
89. Wageningen University & Research. URL: www.wur.nl/nl/Dossiers/dossier/Vogelgriep-.htm (bezocht: 26 maart 2018)
90. Wang Y *et al.* (2014). RNA-seq analysis revealed novel genes and signaling pathway associated with disease resistance to avian influenza virus infection in chickens. *Poult Sci.* 93: 485-93
91. Huang Y *et al.* (2013). The duck genome and transcriptome provide insight into an avian influenza virus reservoir species. *Nat. Genet.* 45: 776-783
92. Lyall J *et al.* (2011). Suppression of avian influenza transmission in genetically modified chickens. *Science* 331: 223-226
93. Lyall J *et al.* (2011) Suppression of avian influenza transmission in genetically modified chickens. *Science* 331:223-226
94. Ku erová D *et al.* (2013). Nonconserved tryptophan 38 of the cell surface receptor for subgroup J avian leukosis virus discriminates sensitive from resistant avian species. *J. Virol.* 87: 8399-8407
95. Lee HJ *et al.* (2017). Precise gene editing of chicken Na⁺/H⁺ exchange type 1 (chNHE1) confers resistance to avian leukosis virus subgroup J (ALV-J). *Dev. Comp. Immunol.* 77: 340-349
96. Voedingscentrum. URL: <http://www.voedingscentrum.nl/encyclopedie/koemelkallergie.aspx> (bezocht: 2 mei 2018)
97. Stichting Voedselallergie. URL: www.voedselallergie.nl/allergenen/melk.html (bezocht: 29 maart 2018)
98. Stichting Voedselallergie. URL: <https://www.voedselallergie.nl/allergenen/ei.html> (bezocht: 29 maart 2018)
99. Oishi I *et al.* (2016). Targeted mutagenesis in chicken using CRISPR/Cas9 system. *Sci. Rep.* 6: 23980
100. Sovová T *et al.* (2017). Genome editing with engineered nucleases in economically important animals and plants: state of the art in the research pipeline. *Curr. Issues Mol. Biol.* 21: 41-62
101. Fan H & Duncan M (2011). Cows churn out 'human breast milk'. *Reuters*, 16 juni 2011
102. Bailey P (2013). Goats' milk with antimicrobial lysozyme speeds recovery from diarrhea. *UC DAVIS* (bezocht: 29 maart 2018)
103. Cooper CA *et al.* (2013). Consuming transgenic goats' milk containing the antimicrobial protein lysozyme helps resolve diarrhea in young pigs. *PLoS One.* 8: e58409

104. Park A (2017). Scientists created low-fat pigs by editing their genes with CRISPR. Time, 24 oktober 2017
105. Zheng Q *et al.* (2017). Reconstitution of UCP1 using CRISPR/Cas9 in the white adipose tissue of pigs decreases fat deposition and improves thermogenic capacity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 114: E9474-E9482
106. Wageningen University & Research. URL: www.wur.nl/nl/Dossiers/dossier/Berengneur.htm (bezocht: 29 maart 2018)
107. Pigbusiness (2017). URL: www.pigbusiness.nl/artikel/30202-onverdoofd-castreren-doet-varkens-in-nood-pijn (bezocht: 29 maart 2018)
108. Recombinetics.com (2018). Recombinetics and DNA genetics form alliance to end surgical castrations of swine by developing precision breeding technology. Press release, 3 januari 2018
109. Hai T *et al.* (2014). One-step generation of knockout pigs by zygote injection of CRISPR/Cas system. Cell Res. 24: 372-375
110. Van Oort W (2016). URL: www.dierenperspectief.nl/onthoornen-van-koeien-en-kalveren-2 (bezocht: 29 maart 2018)
111. Cozzi G *et al.* (2015). Dehorning of cattle in the EU Member States: A quantitative survey of the current practices. Livestock Science 179: 4-11
112. Pettit H (2017). Genetically-modified cows without horns are created to make the countryside safer. Dailymail, 20 februari 2017
113. Carlson DF *et al.* (2016). Production of hornless dairy cattle from genome-edited cell lines. Nat. Biotechnol. 34: 479-481
114. Heselmans M (2017). 'The relationship between humans and animals is back on the agenda. Report on the symposium 'Gene editing in animals' 19 and 20 October 2017. Amsterdam. COGEM CGM/171219-01
115. Doran T *et al.* (2016). Genome editing in poultry - opportunities and impacts. National Institutes of Bioscience Journal. Vol. 1, <http://dx.doi.org/10.2218/natlinstbiosci.1.2016.1742>
116. Horsetalk.co.nz (2017). URL: www.horsetalk.co.nz/2017/12/28/sport-horses-genetic-edits-researchers (bezocht: 29 maart 2018)
117. Knapton S (2017). Genetically engineered 'super-horses' to be born in 2019 and could soon compete in Olympics. The Telegraph, 26 december 2017
118. Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (2016). Zo doende 2015. Jaaroverzicht dierproeven en proefdieren. Ministerie van Economische Zaken, Den Haag
119. Dow LE (2015). Modeling disease *in vivo* with CRISPR/Cas9. Trends Mol. Med. 21: 609-621
120. Liu ET *et al.* (2017). Of mice and CRISPR. EMBO Rep. 18: 187-193
121. Boodman E (2015). With potential to save human lives, CRISPR already sparing mice. STAT news, 7 december 2015
122. Reardon S (2016). Welcome to the crispr zoo. Nature news, 9 maart 2016
123. Cyranovski D (2016). Monkey kingdom. Nature 532: 300-302
124. Cyranovski D (2014). Marmosets are stars of Japan's ambitious brain project. Nature 514: 151-152
125. Xin LUO *et al.* (2016). Application of the genome editing tool CRISPR/Cas9 in non-human primates. Dongwuxue Yanjiu 37: 214-219
126. Niu Y *et al.* (2014). Generation of gene-modified cynomolgus monkey via Cas9/RNA-mediated gene targeting in one-cell embryos. Cell 156: 836-843
127. Liu H *et al.* (2014). TALEN-mediated gene mutagenesis in rhesus and cynomolgus monkeys. Cell Stem Cell 14: 323-328
128. Liu Z *et al.* (2016). Autism-like behaviours and germline transmission in transgenic monkeys overexpressing MeCP2. Nature 530: 98-102
129. Shen H (2014). First Monkeys with customized mutations born. Nature news, 30 januari 2014
130. Geesink I *et al.* (2017). Van Aap naar Beter. Een verkenning en dialoog over proeven met apen. Rathenau instituut, Den Haag
131. European Commission (2017). URL: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/docs/citizens_primates_en.pdf (bezocht 30 maart 2018)
132. Bailey LL *et al.* (1985). Baboon-to-human cardiac xenotransplantation in a neonate. JAMA 254: 3321-3329
133. Köhler W (2017). Experiment zet donatie met orgaan van een dier terug op de agenda. NRC, 26 januari 2017
134. Mohiuddin MM *et al.* (2016). Chimeric 2C10R4 anti-CD40 antibody therapy is critical for long-term survival of GTKO.hCD46.hTBM pig-to-primate cardiac xenograft. Nat. Commun. 7: 11138. doi: 10.1038/ncomms11138
135. Nederlandse Transplantatie Stichting (2017). Jaarverslag 2016. De kracht van de keten
136. Australian Government National Health and Medical Research Council (2002). URL: <https://www.nhmrc.gov.au/media/releases/2002/frequently-asked-questions-about-xenotransplantation> (bezocht: 29 maart 2018)
137. Cowan PJ & Tector AJ (2017). The resurgence of xenotransplantation. Am. J. Transplant. doi: 10.1111/ajt.14311
138. Zimmer C (2015). Editing of pig DNA may lead to more organs for people. The New York Times, 15 oktober 2015

139. Weintraub K (2017). CRISPR may speed pig-to-human transplants. MIT Technology review, 16 maart 2017
140. Puga Yung GL *et al.* (2017). Xenotransplantation: where do we stand in 2016? Swiss Med. Wkly. 147: w14403. doi: smw.2017.14403
141. Kim GA *et al.* (2017). Generation of CMAHKO/GTKO/shTNFRI-Fc/HO-1 quadruple gene modified pigs. Transgenic Res. doi: 10.1007/s11248-017-0021-6
142. Martens GR *et al.* (2017). Humoral reactivity of renal transplant-waitlisted patients to cells from GGTA1/CMAH/B4GalNT2, and SLA class I knockout pigs. Transplantation. 101: e86-e92
143. Paris LL *et al.* (2015). Reduced human platelet uptake by pig livers deficient in the asialoglycoprotein receptor 1 protein. Xenotransplantation 22: 203-210
144. Yang L *et al.* (2015). Genome-wide inactivation of porcine endogenous retroviruses (PERVs). Science 350: 1101-1104
145. Yang Y *et al.* (2016). Genetically humanized pigs exclusively expressing human insulin are generated through custom endonuclease-mediated seamless engineering. J. Mol. Cell Biol. 8: 174-177
146. Reed T (2016). Maryland's next big manufacturing industry: Human organs, says Martine Rothblatt. Washington Business Journal, 24 maart 2016
147. Steenhuysen J & Hirtzer M (2017). Smithfield makes move on market for pig-human transplants. Reuters, 12 april 2017
148. Wu J & Belmonte JCI (2015). Dynamic pluripotent stem cell states and their applications. Cell Stem Cell 17: 509-525
149. Jochemsen H *et al.* (2017). Menselijke organen kweken in dieren: een ethische discussie. Essays in opdracht van het Ministerie van Volksgezondheid, Welzijn & Sport. VWS, Den Haag
150. Waltz E (2017). When pig organs will fly. Nat. Biotechnol. 35: 1133-1138
151. Wu J *et al.* (2017). Interspecies chimerism with mammalian pluripotent stem cells. Cell 168: 473-486
152. Reardon S (2017). Hybrid zoo: introducing pig-human embryos and a rat-mouse. Nature news, 26 januari 2017
153. Wu J *et al.* (2017). Interspecies chimerism with mammalian pluripotent stem cells. Cell 168: 473-486
154. Matsunari H *et al.* (2013). Blastocyst complementation generates exogenic pancreas in vivo in apancreatic cloned pigs. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 110: 4557-4562
155. Mansour AA *et al.* (2018). An in vivo model of functional and vascularized human brain organoids. Nat. Biotechnol. 4127
156. Yeager A (2018). Human brain organoids thrive in mouse brains. The Scientist, 16 april 2018
157. Faharany NA *et al.* (2018). The ethics of experimenting with human brain tissue. Nature comment, 25 April 2018
158. Van Rijn M (2017). Kamerbrief over de morele aanvaardbaarheid van het kweken van menselijke organen in dieren. Ministerie van Volksgezondheid, Welzijn & Sport, Den Haag
159. Fessenden M (2015). Invasive ants could be beaten back with a targeted virus. Smithsonian Magazine, 10 september 2015
160. Sébastien A *et al.* (2015). Invasive ants carry novel viruses in their new range and form reservoirs for a honeybee pathogen. Biol. Lett. 11: 20150610
161. Zastrow M (2018). Doubts raised over Australia's plan to release herpes to wipe out carp. Nature news, 22 februari 2018
162. Kopf RK *et al.* (2017). Confronting the risks of large-scale invasive species control. Nat. Ecol. Evol. 1: 172
163. World Health Organization (2017). URL: <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue> (bezocht: 29 maart 2018)
164. European Center for Disease Prevention and Control. Factsheet about dengue fever (bezocht: 29 maart 2018)
165. World Health Organization (2017). Updated questions and answers related to information presented in the Sanofi Pasteur press release on 30 November 2017 with regards to the dengue vaccine Dengvaxia®. WHO, 20 november 2017
166. Oxitec. URL: <http://oxitec.com/friendly-mosquitoes> (bezocht: 29 maart 2018)
167. Oxitec (2016). OX513A. Draft environmental assessment for investigational use of Aedes aegypti OX513A, februari 2016
168. National Institute for Public Health and the Environment (2017). Technical evaluation of a potential release of OX513A Aedes aegypti mosquitoes on the island of Saba, RIVM report 2017-0087
169. Aguilera M (2018). Researchers Develop First Gene drive Targeting Worldwide Crop Pest. UC San Diego News Center, 17 april 2018
170. Champer J *et al.* (2016). Cheating evolution: engineering gene drives to manipulate the fate of wild populations. Nature Rev. Genet. 17: 146-159
171. Van der Lende V (2016). Gene drives: het ultieme wapen tegen malaria en zikavirus? NTR, De kennis van nu, 25 mei 2016
172. De Jong TJ (2017). Gene drives do not always increase in frequency: from genetic models to risk assessment. J Consum Prot Food Saf 12: 299-307
173. Packard H (2016). Investigating suitability of genetic biocontrol of invasive rodents on islands. 2016 World Conservation Congress, Honolulu, HI

174. Johnson JA *et al.* (2016). Is there a future for genome-editing technologies in conservation? USDA National Wildlife Research Center - Staff Publications. Paper 1818
175. Esvelt KM *et al.* (2014). Concerning RNA-guided gene drives for the alteration of wild populations. *Elife* 3. pii: e03401
176. Hammond MA *et al.* (2017). The creation and selection of mutations resistant to a gene drive over multiple generations in the malaria mosquito. *PLoS Genet* 13(10): e1007039.
177. Ledford H & Callaway E (2015). 'Gene drive' mosquitoes engineered to fight malaria. *Nature News*, 23 november 2015
178. Gantz VM *et al.* (2015). Highly efficient Cas9-mediated gene drive for population modification of the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 112: E6736-43
179. Franz AWE *et al.* (2015). Disruption of dengue virus transmission by mosquitoes. *Curr. Opin. Insect Sci.* 8: 88-96
180. Reardon S (2016). The CRISPR Zoo. *Nature* 531: 160-163
181. Lafferty KD *et al.* (2018). Local extinction of the Asian tiger mosquito (*Aedes albopictus*) following rat eradication on Palmyra Atoll. *Biol. Lett.* 14 pii: 20170743 DOI: 10.1098/rsbl.2017.0743
182. Giller G (2018). Island Lizards Shift to Evolutionary Fast-Track after Invasive Goats and Rats Are Eradicated. *Scientific American*, 30 april 2018
183. Waterschap Rivierenland. URL: www.waterschaprivierenland.nl/muskusrattenbeheer/common/werkwijze.html. (bezocht: 29 maart 2018)
184. Esvelt KM & Gemmel NJ (2017). Conservation demands safe gene drive. *PLoS Biol.* 15: e2003850
185. Zimmer C (2017). Gene drives' are too risky for field trials, scientists say. *New York Times*, 16 november 2017
186. Noble C *et al.* (2017). Current CRISPR gene drive systems are likely to be highly invasive in wild populations. *bioRxiv* preprint article doi: <https://doi.org/10.1101/219022>
187. Champer J *et al.* (2017). Novel CRISPR/Cas9 gene drive constructs reveal insights into mechanisms of resistance allele formation and drive efficiency in genetically diverse populations. *PLOS Genetics* 13(7).
188. Hammond AM *et al.* (2017). The creation and selection of mutations resistant to a gene drive over multiple generations in the malaria mosquito. *PLOS genetics* 13(10)
189. Degnarain N & Phelan R (2018). 5 biotechnologies that might help save endangered species. *Blog revive restore*, 27 maart 2018
190. Johnson JA (2016). Is there a future for genome editing technologies in conservation. *Animal conservation* 19; 97-1-1.
191. Geologie van Nederland. URL: www.geologievannederland.nl/fossielen/zoogdier-beschrijvingen/oeros (bezocht: 29 maart 2018)
192. Stellenbosch University. URL: <https://quaggaproject.org/objectives/> (bezocht: 29 maart 2018)
193. European Rewilding Network. URL: www.rewildingeurope.com/tauros-programme (bezocht: 29 maart 2018)
194. Landers J (2016). Scientists seek to resurrect the aurochs, the extinct beast that inspired cave paintings. *The Washington Post*, 4 april 2016
195. Revive & Restore. URL: <http://reviverestore.org> (bezocht: 29 maart 2018)
196. Moss S (2017). Playing God: should we revive extinct species? *The Guardian*, 17 december 2017
197. Schultz D (2016). Should we bring extinct species back from the dead? *Science Magazine*, 26 september 2016
198. Revive & Restore. URL: <http://reviverestore.org/about-the-passenger-pigeon> (bezocht: 29 maart 2018)
199. Biello D (2016). The case for bringing back the passenger pigeon. *Nautilus* 042, 17 november 2016
200. Balmer AJ (2013). Why we don't need panda's. *Scientific American*, guest blog, 10 september 2013
201. COGEM (2006). Nieuwe technieken in de plantenbiotechnologie. COGEM signalering CGM/061024-02
202. Scientific Advice Mechanism (2017). New techniques in agricultural biotechnology. High level group of scientific advisors, Explanatory note 02/2017
203. European Parliament (2016). New plant breeding techniques; applicability of GM rules. Briefing, mei 2016
204. Court of Justice of the European Union (2018). According to Advocate General Bobek, organisms obtained by mutagenesis are, in principle, exempted from the obligations in the Genetically Modified Organisms Directive. Press release, 18 januari 2018
205. Lievens A *et al.* (2015). Genetically modified animals: options and issues for traceability and enforcement. *Trends in Food Science & Technology* 44: 159-176
206. European Food Safety Authority (2012). Guidance on the risk assessment of food and feed from genetically modified animals and on animal health and welfare aspects. *EFSA Journal* 10: 2501-2543

207. European Food Safety Authority. URL: www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/animalwelfare (bezoekt: 30 maart 2018)
208. European Commission. URL: https://ec.europa.eu/food/animals_en (bezoekt: 30 maart 2018)
209. European Commission (2016). URL: https://ec.europa.eu/food/animals/zootechnics/legislation_en (bezoekt: 30 maart 2018)
210. Responsible breeding.eu (2017) Code EFABAR. Update 2017. URL: <http://www.responsiblebreeding.eu/code-efabar-update-2017.html> (bezoekt: 30 maart 2018)
211. EU PiG innovation Group. URL: www.eupig.eu/project/work (bezoekt: 30 maart 2018)
212. Rothuizen J *et al.* (2014). Incidentie van schadelijke raskenmerken en erfelijke gebreken bij populaties van gezelschapsdieren. Onderzoeksrapport Universiteit Utrecht, Faculteit Diergeneeskunde, Departement Geneeskunde van Gezelschapsdieren, Expertisecentrum Genetica Gezelschapsdieren (bezoekt: 30 maart 2018)
213. Tweede Kamer der Staten-Generaal (2014). Biotechnologie en kwekersrecht. Kamerstuk nr. 2018D12139, 27 mei 2014
214. Rijksoverheid (2010). Regelgeving biotechnologie bij dieren is vereenvoudigd. Nieuwsbericht (bezoekt: 30 maart 2018)
215. Tweede Kamer der Staten-Generaal (2014). Kabinetsstandpunt inzake biotechnologie bij plant en dier en uitvoering motie Klaver over overleg met de Kamer over herbicideresistente gewassen. Kamerstuk nr. 27428-270, 4 april 2014
216. Council of the European Union (2010). Council agrees on stricter rules for animal experimentation. Press release 9550/10 (presse 105), 11 mei 2010
217. Tweede Kamer der Staten-Generaal (2013). 'Wijziging van de Wet op de dierproeven in verband met implementatie van Richtlijn 2010/63/EU'. Kamerstuk 33692 nr. 3, 15 juli 2013
218. Timmons J (2014). Want to create a mammoth? Some legal food for thought. URL: <https://mostlymammoths.wordpress.com/2014/02/03/want-to-recreate-a-mammoth-some-legal-food-for-thought/> (bezoekt: 30 maart 2018)
219. Carlin NF *et al.* (2013). How to permit your mammoth: some legal implications for 'De-extinction'. *Stanford Environ. Law J.* 33: forthcoming (bezoekt: 30 maart 2018)
220. Adams WM (2016). Geographies of conservation I: de-extinction and precision conservation. *Progress in Human Geography.* 41: 534-545
221. Uitvoeringsagenda Duurzame Veehouderij 2023. URL: <http://www.uitvoeringsagendaduurzameveehouderij.nl/werken-aan-verduurzaming/versnellingsprojecten/initiatiegroep-duurzame-fokkerij/> (bezoekt: 30 maart 2018)
222. Initiatiegroep Duurzame Fokkerij (2016). URL: www.uitvoeringsagendaduurzameveehouderij.nl/files/3114/7895/9407/Persbericht-Gene-Editing-workshop-oktober-2016-initiatiegroep-duurzame-veehouderij.pdf (bezoekt: 30 maart 2018)
223. Plan fairfok. URL: www.houdenvanhonden.nl/gezond-fokken-met-fairfok/plan-fairfok (bezoekt: 30 maart 2018)
224. De Weerd M *et al.* (2012). Implementation of ethical standards in a cattle improvement company. In: *Climate change and sustainable development*. Ed. Potthast T & Meisch S. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands
225. Uitvoeringsagenda Duurzame Veehouderij 2023 URL: <http://www.uitvoeringsagendaduurzameveehouderij.nl/werken-aan-verduurzaming/versnellingsprojecten/initiatiegroep-duurzame-fokkerij/ethisch-beslissingsmodel-duurzame-veefokkerij/> (bezoekt: 30 maart 2018)
226. Aarts N. (2015). The Art of Dialogue. Wageningen, Wageningen University & Research. Inaugurele rede bij de aanvaarding van het ambt van persoonlijk hoogleraar op 3 september 2015
227. INRA (2015). INRA reports to the legal authorities that it sold an animal bred in the context of a research programme. Press release, 23 juni 2015
228. Hilgartner S (2017). *Reordering life; Knowledge and control in the genomics revolution*. The MIT Press, London, UK
229. COGEM (2013). Waar rook is, is vuur? Omgaan met de uitkomsten van alarmerende studies over de veiligheid van ggo's. COGEM signalering CGM/131031-01
230. Raad voor Dierenaangelegenheden (2010). Agenda voor het dierbeleid. Zienswijze RDA 2010/01
231. O'Keefe M *et al.* (2015). 'Editing' genes: a case study about how language matters in bioethics. *Am. J. Bioeth.* 15: 3-10
232. Le Blansch K (2017). Naar toekomstbestendig biotechnologiebeleid. Verslag stakeholderbijeenkomsten juni 2017
233. InSites Consulting (2017). Publieksopvattingen over biotechnologie. Onderzoeksrapport InSites Consulting, november 2017
234. Esvelt K (2016). Gene editing can drive science to openness. *Nature Column* 534 (153)
235. Jasanoff J & Hurlbut JB (2018). A global observatory for gene editing. *Nature* 555: 435-437
236. Warnock M (2018). We need to use gene editing wisely but also embrace its vast potential. *The Guardian*, 11 maart 2018

237. Terlouw JC (2002). Eten en genen; een publiek debat over biotechnologie en voedsel. Verslag van de Tijdelijke commissie biotechnologie en voedsel, onder voorzitterschap van dr. J.C. Terlouw, Den Haag, 9 januari 2002
238. Hartley S & Millar K (2014). The challenges of consulting the public on science policy: examining the development of European risk assessment policy for genetically modified animals. *Review of Policy Research* 31: 481-502
239. Stilgoe J *et al.* (2013). Developing a framework for responsible innovation. *Research Policy* 42: 1568-1580
240. Haddaway NR *et al.* (2017). A framework for stakeholder engagement during systematic reviews and maps in environmental management. *Environ. Evid.* 6(11)
241. Jellema J & Mulder HAJ (2016). Public engagement in energy research. *Energies* 9(125)
242. Reed MS *et al.* (2008). Stakeholder participation for environmental management: a literature review. *Biological Conservation* 141: 2417-2431
243. Quinlan M *et al.* (2016). Experiences in engaging the public on biotechnology advances and regulation. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 4: 3 doi: 10.3389/fbioe.2016.00003
244. Struik PC & Kuyper TW (2017). Sustainable intensification in agriculture: the richer shade of green. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. *Agronomy for Sustainable Development* 37(39)
245. Hanssen L (2009). From transmission toward transaction; Design requirements for successful public participation in communication and governance of science and technology. *Academisch Proefschrift, Universiteit Twente. FB Radboud Universiteit, Nijmegen*
246. Hartley S *et al.* (2016). Essential features of responsible governance of agricultural biotechnology. *PLoS Biol.* 14: e1002453. doi: 10.1371/journal.pbio.1002453
247. PBL stakeholder participatie checklist (2008). URL: www.pbl.nl/sites/default/files/cms/publicaties/550032004.pdf (bezoekt: 2 mei 2018)
248. Reed MS *et al.* (2018). A theory of participation: what makes stakeholder and public engagement in environmental management work? *Restoration Ecology* 26(51):S7-S17
249. De Cock Buning T & Honingh NG (2006). Review van interactieve en participatieve methoden voor het achterhalen van stakeholdervisies omtrent genetische modificatie. *COGEM Onderzoeksrapport CGM 2006-06*
250. Jansen A *et al.* (2011). Multi-stakeholderplatforms. Een analyse van werkwijze en effectiviteit. *COGEM onderzoeksrapport CGM 2011-10*
251. COGEM (2017). Aandachtspunten en valkuilen stakeholderbetrokkenheid bij onderzoek naar controversiële onderwerpen. *COGEM signalerende brief CGM/170111-03*
252. Synenergene online tools. URL: www.synenergene.eu/resource/igemer%E2%80%99s-guide-future.html (bezoekt: 2 mei 2018)
253. Raad voor Dieraangelegenheden (2015). Startdocument forum one health bouwstenen voor afwegingskader. *zienswijze RDA.2015.31*
254. Hanssen L (2006). Governance van biotechnologie. De veranderende rol van adviescolleges. *COGEM onderzoeksrapport CGM 2006-01*
255. Poort LM (2013). Consensus and Controversies in Animal Biotechnology. *An Interactive Legislative Approach to Animal Biotechnology in Denmark, Switzerland, and the Netherlands*, Eleven International Publishing, Netherlands: The Hague 2013
256. Castle D & Culver K (2013). Getting to 'no': the method of contested exchange. *Science and Public Policy* 40: 34-42
257. Poort LM (2012). An Ethos of Controversies: A Critical Analysis of the Interactive Legislative Approach, *Legisprudence* 2012, pp. 35-55
258. Raad voor Dierenaangelegenheden (2016): Fokkerij en voortplantingstechnieken. *Zienswijze, RDA.2015.017*

