

Erzeugung transgener Nutztiere durch lentivirale Vektoren

Barbara Keßler¹, Andreas Hofmann², Sonja Ewerling¹, Marc Boelhauve¹, Alexander Pfeifer² und Eckhard Wolf¹

¹Institut für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie, LMU München

²Department Pharmazie, Institut für Pharmakologie, LMU München

Die Erzeugung transgener Nutztiere erfolgt bis heute vorwiegend durch DNA-Mikroinjektion in den Vorkern von Zygoten, obwohl die Effizienz dieser Technik sehr gering ist und die Kosten dadurch sehr hoch zu veranschlagen sind.

Durch den Einsatz replikationsdefizienter Lentiviren wurden weitaus höhere Erfolgsraten im Gentransfer erreicht. Das unter Kontrolle des ubiquitär exprimierenden Phosphorylglycerat-Kinase-1 Promoters stehende GFP-Reportergen wurde bei 70% der erzeugten Ferkel nachgewiesen, von denen 94% dieses Transgen auch exprimierten. Die Expression wurde anhand von direkter Fluoreszenz sowie immunhistochemisch in unterschiedlichen Geweben aller drei Keimblätter detektiert. Die Zahl der integrierten Proviren variierte bei den einzelnen Tieren zwischen einem und 20 viralen Integranen, wobei die Anzahl und Verteilung der Kopien in den verschiedenen Organen der einzelnen Tiere immer identisch war. Die GFP-Konzentration nahm mit steigender Anzahl der Integranen nahezu linear zu.

In einem weiteren Konstrukt wurde anstelle des ubiquitär exprimierenden Promoters der hautspezifische humane Keratin 14-Promotor verwendet, wodurch eine selektive GFP-Expression in den proliferierenden Zellen der basalen Epidermis (basalen Keratinozyten) und in den Haarbälgen der Haut erreicht wurde.

Die Keimbahntransmission der in das Genom integrierten lentiviralen Vektoren wurde inzwischen durch die Geburt von 8 GFP-positiven F1-Ferkeln aus 3 Würfen mittels Southern Blot Analyse und *in vivo* imaging bestätigt.

Der Vorteil der Erstellung transgener Nutztiere mit Hilfe lentiviraler Vektoren liegt vor allem in der hohen Effizienz und der damit verbundenen deutlichen Kostensenkung. Diese gestiegene Wirtschaftlichkeit könnte die weitere Verbreitung transgener Techniken bei Nutztieren forcieren, beispielsweise im Bereich der Modifikation tierischer Organe für die Xenotransplantation oder zur Erschließung neuer Produktionsquellen für die Biotechnologie im Sinne des *gene farming*.