

SAG - STUDIENPAPIERE

Basisdokumente

Expertisen

Argumentationen

B4 – März 00

Transgene Nutztiere

Landwirtschaft - Gene Farming - Klonen

PD Dr. Daniel Ammann
SAG-Geschäftsstelle

Benno Vogel
zyPRESSE

Studie finanziert und herausgegeben von:
Zürcher Tierschutz
Zürichbergstr. 263
8044 Zürich

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	3
2.	Transgene Tiere in der Landwirtschaft	5
2.1	WACHSTUM.....	5
2.1.1	Wachstumshormon-Gene	7
2.1.2	Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor 1	8
2.1.3	Hormon-freisetzender Faktor.....	9
2.1.4	β-Agonisten	9
2.2	KRANKHEITSRESISTENTE TIERE	9
2.2.1	Natürlich vorkommende Krankheitsresistenzen	11
2.2.2	Interne Immunisierung	11
2.2.3	Intrazelluläre Immunisierung	12
2.3	MILCHQUALITÄT	12
2.3.1	Menschliche Kuhmilch.....	15
2.3.2	Laktose-arme Milch.....	16
2.3.3	Bessere Milch für Ferkel.....	17
2.4	WOLLPRODUKTION.....	17
2.4.1	Mehr Wolle.....	18
2.4.2	Bessere Wolle.....	19
2.5	DIVERSES.....	19
2.6	ETHISCHE BEWERTUNG.....	20
3.	Gene Pharming	21
3.1	AKTUELLER STAND UND ENTWICKLUNGSTRENDS.....	21
3.2	WIRTSCHAFTLICHE ASPEKTE.....	23
3.3	PROBLEMFELDER.....	24
3.3.1	Gentransfer: Embryonenverschleiss.....	25
3.3.2	Positionseffekte: Unerwünschte Nebenwirkungen auf Tiere.....	27
3.3.3	Genexpression: Belastung der Tiere.....	27
3.3.4	Produktkontamination: Medikamentenrisiko.....	29
3.4	ALTERNATIVEN.....	30
3.4.1	Mikroorganismen.....	30
3.4.2	Pflanzen	31
3.5	ETHISCHE BEWERTUNG.....	32
3.6	DAS PRO UND KONTRA DES GENE PHARMINGS.....	33
4.	Klonen	34
4.1	KERNTRANSFER UND TRANSGENESE.....	37
4.2	PROBLEME BEIM KLONEN	39
5.	Exkurs: Biotechnische Verfahren in der Nutztierzucht	40
5.1.	GENTESTS.....	41
5.2	MARKER-UNTERSTÜTZTE SELEKTION.....	41
6.	Literatur	42

1. Einleitung

Biotechnische Methoden beeinflussen die Tierzucht bereits seit mehr als 50 Jahren. Künstliche Besamung, In-vitro-Fertilisation und Embryotransfer – sie haben in dieser Zeit die Vielfalt und Beschaffenheit der Zuchtprodukte wesentlich mitbestimmt, dabei den Zuchtaufwand gesenkt, die Erträge gesteigert und neue Produkte kreiert. Die biotechnischen Methoden sorgten jedoch nicht nur für bessere Erträge und damit für höhere ökonomischen Gewinne. Sie verstärkten auch die Tendenz, die Tierzucht und -haltung zur Produktionstechnik zu verkehren und aus den Nutztieren Produktionsfaktoren zu machen. Und letztendlich sorgten sie auch dafür, dass die Tierzucht bereit war, sich die entwickelnden gentechnischen Methoden anzueignen.

Als es 1980 gelang, das Erbgut eines Säugetiers – einer Maus – gentechnisch zu verändern, begannen TierzüchterInnen, die Gentechnik an Nutztieren zu erproben. So folgten innerhalb weniger Jahre nach der transgenen Maus die ersten Berichte über transgene Schafe, Schweine, Kühe, Ziegen und Hühner. Je grösser die Anzahl transgener Nutztiere wurde, desto grösser wurden auch die Versprechungen. Gesteigerte Leistungen, besseres Fleisch, weniger Krankheiten, billige Medikamente und mehr Organe – mit transgenen Nutztieren wollten die TierzüchterInnen den Welthunger stillen, die Nutztiere gesünder machen, die Wünsche der KonsumentInnen befriedigen und die humanmedizinische Versorgung verbessern. Vor lauter Versprechungen und Euphorie über die ersten Erfolge vergassen die TierzüchterInnen die Grundlagenforschung und schritten zur Tat, ohne dass sie wussten, wie Gene reguliert werden, wie sie funktionieren und interagieren. Dem Kenntnisstand entsprechend war auch die Methode, mit der TierzüchterInnen die Nutztiere transgen machten, noch unausgereift. Mit der Mikroinjektionsmethode gelang es zwar, fremde Gene so in Zygoten einzuspritzen, dass sich die Zygoten trotzdem zu Jungtieren weiter entwickelten. Aber die Injektion war dabei genauso unspezifisch wie der Ort, an dem sich das fremde Gen im Erbgut der Zygote integrierte. Alles in allem: Die Methode bestach vor allem durch ihre Ineffizienz. Nur ein Prozent der mikroinjizierten Zygoten entwickelte sich im Durchschnitt zu einem ausgewachsenen Lamm, Ferkel oder Kalb. Dass die geborenen transgenen Lämmer, Ferkel und Kälber dann häufig auch noch krank waren oder an verschiedenen Störungen litten und zudem ihre fremden Gene nur selten an ihre Nachkommen weitergaben, machte die Sache noch schlechter. Und der Probleme nicht genug mussten TierzüchterInnen auch mit den hohen Kosten für die Tiere und ihre Versorgung kämpfen, mit dem Fehlen von Inzuchtlinien, den langen Generationszeiten, den kleinen Wurfgrössen und dem Fehlen von embryonalen Stammzellen. Je mehr Erfahrungen die TierzüchterInnen sammelten, desto klarer wurde ihnen, dass die Herstellung transgener Nutztiere ein aufwendiges, risikoreiches und teures Unterfangen war. Diese Einsicht bewog sie jedoch nicht dazu, die Hände vom Erbgut der Tiere zu lassen. Sie sorgte vielmehr dafür, dass die Investitionen sich mehr in den Bereich verlagerten, der bei Erfolg die höchsten Profite versprach. Und das war das Gene Pharming.

Das Gene Pharming ist denn auch der Bereich, wo man heute in Forschung und Produktion am weitesten fortgeschritten ist. Marktreife Produkte sind zwar noch nicht vorhanden, aber einige mit transgenen Nutztieren hergestellte Medikamente befinden sich zur Zeit in klinischen Versuchen. In den anderen Bereichen fehlen marktreife Produkte ebenfalls: keine transgenen Schweine, die schneller wachsen, keine Kühe, die gesündere Milch geben und keine Schafe, die mehr Wolle produzieren. Weshalb Hunderte von Millionen Franken, die in den letzten zwanzig Jahren weltweit in die Forschung mit transgenen Nutztieren investiert wurden, keine Erfolge brachten, hat einen einfachen Grund: seit an transgenen Nutztieren geforscht wird, hat sich kaum etwas geändert hat. Die Techniken sind weitgehend die gleichen und bestechen

immer noch durch ihre Ineffizienz. Die transgenen Lämmer, Ferkel und Kälber kommen auch heute häufig krank zur Welt und geben ihre fremden Gene weiterhin nur selten an ihre Nachkommen weiter. Die Bestrebungen, bei Nutztieren embryonale Stammzellen zu gewinnen, sind bisher alle erfolglos verlaufen. Und an den biologischen Grundausstattungen wie Wurfgrösse oder Generationszeit lässt sich ohnehin kaum rütteln. Alles beim Alten also: die Herstellung transgener Nutztiere bleibt ein aufwendiges, risikoreiches, teures und wenig erfolgversprechendes Unterfangen.

Aufgegeben haben die TierzüchterInnen nie. Sie bestärkten sich immer wieder mit der Hoffnung, dank technischer Weiterentwicklungen die Probleme demnächst in den Griff zu bekommen. Jetzt scheint ihre Ausdauer belohnt zu werden. Die Kerntransfermethode, die Methode mit der Dolly geklont wurde, gilt als der lang ersehnte technische Durchbruch. Verbunden mit gentechnischen Methoden soll der Kerntransfer die Mängel der Mikroinjektionsmethode verbessern. Die Ziele, die mit transgenen Tieren erreicht werden sollen, erhalten damit neuen Aufwind. Und auch die Versprechungen sind wieder da: Schon bald sollen transgene geklonte Kühe, Schweine und Schafe bessere Milch, fettarmes Fleisch und mehr Wolle produzieren. Im Jubel über die Kerntransfermethode gehen einmal mehr wichtige Fragen verloren. Tierschutzaspekte bleiben ebenso aussen vor, wie KonsumentInnenwünsche und Umweltrisiken. Und auch die Fragen nach dem gesellschaftlichen Nutzen, den Folgen der Patentierung transgener Nutztiere und den ethischen Problemen finden keinen Platz.

Ob die Kerntransfermethode die Versprechungen erfüllen kann, bleibt offen. Vielleicht dient sie auch nur einmal mehr dazu, den TierzüchterInnen Mut und Hoffnung zu machen, dass ihre Bemühungen endlich Früchte tragen werden. In diesem Fall würde sie an der Eigenschaft der transgenen Forschung, wie sie George Seidel beschrieben hat, nichts ändern: «Die Forschung mit transgenen Nutztieren hat einen einzigartigen Charakter. Tausende von Personenjahren wurden bisher in die Forschung gesteckt, ohne dass irgendein Produkt entwickelt worden ist.»¹

Tier	Einsatz
Kuh	Gene Pharming, Fleischproduktion, Milchproduktion, Krankheitsresistenz
Schaf	Gene Pharming, Fleischproduktion, Wollproduktion, Krankheitsresistenz
Schwein	Wachstum, Fleischproduktion, Xenotransplantation, Milchproduktion, Krankheitsresistenz
Ziege	Gene Pharming
Kaninchen	Gene Pharming
Huhn	Gene Pharming, Krankheitsresistenz, Fleischproduktion,

Tabelle 1: Wo transgene Nutztiere eingesetzt werden sollen.

Die vorliegende Arbeit will einen Überblick darüber geben, was die Forschung mit transgenen Tieren in den letzten Jahre gebracht hat. Anhand der Informationen, die in wissenschaftlichen Fachzeitschriften publiziert wurden, wird der Stand der Forschung und Entwicklung dargestellt.

Kapitel 2 stellt die Situation in der Landwirtschaft dar. Die Rede ist von transgenen Kühen, Schweinen und Schafen, die schneller wachsen, mehr Fleisch produzieren und resistenter gegen Krankheiten sein sollen. Was die Pharmaproduzenten mit transgenen Nutztieren anstellen, davon handelt das Kapitel 3. Es gibt die Situation im Bereich des Gene Pharming wieder. Kapitel 4 beschreibt, wie die Verbindung von Klontechnik und Transgenese die

¹ Seidel, G.E. Jr. (1999). The future of transgenic farm animals. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), Transgenic animals in agriculture. CAB International, S. 269.

Herstellung von transgenen Nutztieren erleichtern soll. Nach einem kurzen Exkurs über biotechnische Methoden in der Tierzucht, folgt im Anhang eine Abdruck des SAG-Studienpapiers (A1/99) zum Thema Xenotransplantation. Am Schluss dieser Arbeit findet sich eine Liste der wissenschaftlichen Literatur. Kopien dieser Artikel können an der ETH-Bibliothek in Zürich oder bei den Autoren bezogen werden.

2. Transgene Tiere in der Landwirtschaft

2.1 Wachstum

Als Palmiter et al. 1982 berichteten, wie transgene² Mäuse dank zusätzlichen Wachstumshormon-Genen schneller wachsen und grösser werden³, horchten die NutztierwissenschaftlerInnen auf. Sie hofften nun, ähnliche Effekte auch bei Schweinen, Kühen und Schafen zu erzielen. Dabei dachten sie weniger an schnell wachsende Tiere mit gigantischen Körpergrössen, als vielmehr an die zwei wirtschaftlich viel lohnenderen Effekte, die ebenfalls mit Wachstumshormon-Genen zusammenhängen. Sie dachten an Tiere, die ihre Nahrung effizienter nutzen und dazu noch fettärmeres Fleisch produzieren.⁴ Welche Gewinne diese Tiere versprechen, zeigen Solomon et al. am Beispiel des Schweines:⁵ Mehr als eine Milliarde US-Dollar könnte man jährlich allein in den USA an Futterkosten einsparen, wenn alle Schweine ihr Futter um zwanzig Prozent besser nutzten als heute. Hinzu kommt, dass die Produzenten mit den gleichen Fixkosten zehn bis fünfzehn Prozent mehr Schweine halten könnten, wenn die Tiere schneller wachsen. Und schliesslich sind da noch die KonsumentInnen, die das magere, fettarme Fleisch der transgenen Tiere häufiger kaufen als früher.

So setzte der Bericht über die «gigantischen» Mäuse die TierzüchterInnen in helle Aufregung. Die Tierproduktionsindustrie war nichts weniger als ekstatisch über die neue Möglichkeit, schneller wachsende, grösser werdende und nahrungseffizientere Nutztiere zu züchten.⁶ Neue Firmen wurden gegründet und akademische Forschungsprogramme lanciert. Doch so gross die Hoffnungen in die neue Gentechnik waren, so gross waren auch die Enttäuschungen über die ersten Resultate. Verschiedene transgene Tiere wurden produziert, vor allem Schweine, doch keines erfüllte die Erwartungen. Zwar wuchsen die Tiere schneller und nutzten auch ihre Nahrung effizienter, aber die Krankheiten, an denen sie dabei litten, waren zu schwerwiegend und verhinderten eine wirtschaftliche Umsetzung. Der erste Enthusiasmus erlahmte und die Zahl der Publikationen, die Ende der 80er, Anfangs der 90er Jahre ihren Höhepunkt erreicht hatte, nahm kontinuierlich ab. Die Arbeiten gingen aber dennoch weiter, die WissenschaftlerInnen konzentrierten sich nun darauf, die Techniken zu verfeinern und geeignete Promotoren zu finden. Mit Erfolg, wie es scheint. Im August 1997 können an einer Konferenz in Tahoe City, Kalifornien, zwei Forscherteams von transgenen Schweinen berichten, die ohne Gesundheitsprobleme schneller wachsen und fettärmeres Fleisch pro-

² Ein transgenes Tier ist ein Tier, dem direkt genetisches Material ins Erbgut eingeführt wird, das ausserhalb des Tieres in vitro zubereitet wurde

³ Palmiter et al. (1982). Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes. *Nature*, Vol. 300, S. 611 – 615.

⁴ Pursel, V.G. (1998). Modification of production traits. In: Clark, A.J. (Ed.), *Animal breeding. Technology for the 21st century*. Harwood Academic Publishers, S. 184.

⁵ Solomon et al. (1997). Biotechnology for porcine products and its effect on meat products. *Food Chemistry*, Vol. 59, Nr. 4, S. 502.

⁶ Westhusin, M. (1997). From mighty mice to mighty cows. *Nature Genetics*, Vol. 17, S. 4.

duzieren sollen.⁷ Dabei stünden die einen Schweine in Australien sogar kurz vor der Markteinführung.

Transgen	Quelle des Transgens	Transgenes Tier	Ref.
Wachstumshormon-Gen	Schwein	Schwein	8
	Rind	Rind	9
		Schwein	10
		Schaf	11
	Mensch	Schaf	12
		Schwein	13
	Schaf	Schaf	14
	Ratte	Schwein	15
Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor I	Mensch	Rind	16
		Schwein	17
Östrogen-Rezeptor	Mensch	Rind	18
Hormon-freisetzender Faktor	Mensch	Schaf	19
		Schwein	20

Tabelle 2: Beispiele von Nutztieren mit einem Transgen, das das Wachstum steigert (verändert nach Pursel²¹).

⁷ Niemann, H. (1998). Transgenic farm animals get off the ground. *Transgenic Research*, Vol. 7, S. 73 – 75.

⁸ Ebert et al. (1990). Porcine growth hormone gene expression from viral promoters in transgenic swine. *Animal Biotechnology*, Vol. 1, S. 145 – 159. Vize et al. (1988). Introduction of a porcine growth hormone fusion gene into transgenic pigs promotes growth. *Journal of Cell Science*, Vol. 90, S. 295 – 300.

⁹ Roshlau et al. (1989). Gene transfer experiments in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*, Vol. 38, S. 153 – 160.

¹⁰ Pursel et al. (1987). Progress on gene transfer in farm animals. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Vol. 17, S. 303 – 312. Polge et al. (1989). Induced expression of a bovine growth hormone construct in transgenic pigs. In: Heap, R.B., Prosser, C.G. & Lamming, G.E. (eds.), *Biotechnology of growth regulation*. Butterworths, S. 189 – 199.

¹¹ Rexroad et al. (1989). Production of transgenic sheep with growth relating genes. *Molecular Reproduction and Development*, Vol. 1, S. 164 – 169.

¹² Brem et al. (1985). Production of transgenic mice rabbits and pigs by microinjection into pronuclei. *Zuchthygiene*, Vol. 20, S. 251 – 252.

¹³ Hammer et al. (1985). Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection. *Nature*, Vol. 315, S. 680 – 683.

¹⁴ Murray et al. (1989). The production of transgenic Merino sheep by microinjection of ovine metallothionein-ovine growth hormone fusion genes. *Reprod. Fert. Dev.*, Vol. 1, S. 147 – 155.

¹⁵ Ebert et al. (1988). A Moloney MLV-rat somatropin fusion gene produces biologically active somatropin in an transgenic pig. *Molecular Endocrinology*, Vol. 2, S. 277 – 283.

¹⁶ Hill et al. (1992). Production of transgenic cattle by pronuclear injection. *Theriogenology*, Vol. 37, S. 222.

¹⁷ Coleman et al. (1995). Regulatory sequences from the avian skeletal α -actin gene directs high level expression of human insulin-like growth factor-I cDNA in skeletal muscle of transgenic pigs. *Journal of Animal Science*, Vol. 73, Suppl. 1, S. 145.

¹⁸ Massey, J.M. (1990). Animal production industry in the year 2000 A.D. *Journal Reprod. Fertil. Suppl.*, Vol. 41, S. 199 – 208.

¹⁹ Rexroad et al. (1991). Transferrin- and albumin-directed expression of growth-related peptides in transgenic sheep. *Journal of Animal Science*, Vol. 69, S. 2995 – 3004.

²⁰ Pursel et al. (1989). Genetic engineering of livestock. *Science*, Vol. 244, S. 1281 – 1288.

Auf die anfänglichen Enttäuschungen folgen nun die ersten Erfolgsmeldungen. Transgene Schweine, die schneller wachsen, ihr Futter besser verwerten und mehr Fleisch mit weniger Fett produzieren könnten in naher Zukunft auf den Markt kommen. Damit führte die gentechnische Züchtung nahtlos den Weg weiter, den ihr die konventionelle Züchtung vorbereitete. Besseres Fleisch-Fett-Verhältnis, schnelleres Wachstum – die ZüchterInnen wissen schon länger, was sie von den Schweinen verlangen. Die Nebenwirkungen der Zuchtwahl erfahren die Schweine täglich am eigenem Leib. Das «biologische System» Schwein ist aus dem Gleichgewicht. Während im Lauf der Zuchtjahre die Muskulatur zu, der Fettanteil abnahm, blieben Herz, Leber, Nieren und das Gefäßsystem gleich. Die Organe passen nicht mehr zum veränderten Körper. Die Tiere leiden und müssen oft notgeschlachtet werden.

2.1.1 Wachstumshormon-Gene

Ende der 80er, Anfang der 90er Jahre wurde eine Vielzahl an transgenen Schweinen und Schafen hergestellt, die ein zusätzliches Wachstumshormon-Gen (WH-Gen) besitzen. Die verwendeten Gene stammten dabei vom Menschen, Rind, Ratte, Schwein oder Schaf (Tabelle 2) und wurden jeweils in Kombination mit verschiedenen Promotoren getestet. Die Resultate fielen denn auch unterschiedlich aus. Vize et al. berichten von einem transgenen Schwein, das dank einem zusätzlichen Schweine WH-Gen viel schneller wuchs als seine unveränderten Geschwister.²² Anders in den Versuchen von Ebert et al.. Hier wuchsen die beiden transgenen Schweine, die ebenfalls ein zusätzliches Schweine WH-Gen exprimierten, nicht besser.²³ Die Resultate unterscheiden sich, weil in den beiden Versuchen verschiedene Promotoren verwendet wurden.

Auf den ersten Blick ein Erfolg waren die als «Beltsville-Schweine» bekannt gewordenen Tiere: Dank eines WH-Gens des Rindes nutzten sie ihr Nahrung um 18 Prozent besser und wuchsen bis zu 14 Prozent schneller als unveränderte Schweine.²⁴ Der zweite Blick machte aber klar, dass es mit dem Erfolg nicht weit her war. Die durchaus effizienten Schweine erlitten nämlich das gleiche Schicksal wie alle transgenen Schweine, die ein zusätzliches WH-Gen kontinuierlich exprimieren: Sie wurden krank.²⁵ Die «Beltsville-Schweine» waren lahm und stressempfindlicher und sie litten unter Magengeschwüren, Arthritis, Nierenschmerzen und Parakeratosis.²⁶

Nicht viel besser erging es transgenen Schafen, die ein zusätzliches WH-Gen des Rindes oder des Schafes verpasst bekamen. Obwohl sie weder schneller wuchsen noch ihre Nahrung effizienter nutzten, sondern magerer wurden, vertrugen sie den gentechnischen Eingriff schlecht.²⁷ Schwer deformierte Vorderbeine war eine der häufig beobachteten Anomalien.

²¹ Pursel, V.G. (1998). Modification of production traits. In: Clark, A.J. (Ed.), Animal breeding. Technology for the 21st century. Harwood Academic Publishers, S. 183.

²² Vize et al. (1988). Introduction of a porcine growth hormone fusion gene into transgenic pigs promotes growth. Journal of Cell Science, Vol. 90, S. 295 – 300.

²³ Ebert et al. (1990). Porcine growth hormone gene expression from viral promoters in transgenic swine. Animal Biotechnology, Vol. 1, S. 145 – 159.

²⁴ Pursel et al. (1989). Genetic engineering of livestock. Science, Vol. 244, S. 1281 – 1288.

²⁵ Pursel, V.G. (1998). Modification of production traits. In: Clark, A.J. (Ed.), Animal breeding. Technology for the 21st century. Harwood Academic Publishers, S. 186. Pursel et al. (1987). Progress on gene transfer in farm animals. Veterinary Immunology and Immunopathology, Vol. 17, S. 303 – 312. Ebert et al. (1988). A Moloney MLV-rat somatropin fusion gene produces biologically active somatropin in an transgenic pig. Molecular Endocrinology, Vol. 2, S. 277 – 283.

²⁶ Pursel et al. (1989). Genetic engineering of livestock. Science, Vol. 244, S. 1281 – 1288.

²⁷ Rexroad et al.(1989). Production of transgenic sheep with growth relating genes. Molecular Reproduction and Development, Vol. 1, S. 164 – 169. Murray, J.D., Nancarrow, C.D., Marshall,

Die Ursachen für die schlimmen Nebenwirkungen der WH sah man eindeutig darin, dass man die Genexpression nicht unter Kontrolle hatte. Mit der Wahl geeigneter Promotoren wollte man deshalb das Problem umgehen. Erste Versuch mit Promotoren, die von aussen durch spezifische Nahrungskomponenten induziert werden können, schlugen fehl. So führte zum Beispiel ein durch Zink induzierbarer Metallothioneinpromotor in transgenen Schweinen unerwartet zu einer konstitutiven Expression des Transgens.²⁸ Und auch mit einem durch Kohlehydrate aktivierbaren Promotor bekam man die Genexpression in transgenen Schweinen nicht in den Griff.²⁹ In einem neueren Versuch ist es australischen Firmen nun aber gelungen, die Expression eines WH-Genes zu kontrollieren. Die WissenschaftlerInnen von BresaGen und Bunge Meat Industries gingen dabei folgendermassen vor: Sie modifizierten ein Wachstumshormon-Gen des Schweines und setzten es dann an einen ebenfalls veränderten Metallothioneinpromotor des Menschen.³⁰ Schliesslich stellten sie ausreichend viele transgene Gründertiere her, töteten diejenigen, die das Transgen fälschlicherweise konstitutiv bildeten, und kreuzten die übrig bleibenden weiter. Die strenge Kontrolle der Genexpression im Nachwuchs verhinderte nun, dass das Wachstumshormon pathologisch wirkende Konzentrationen erreicht.

2.1.2 Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor 1

Der Insulin-ähnliche Wachstumsfaktor 1 (IGF-1) stimuliert die Bildung von Wachstumshormonen. Er könnte deshalb in transgenen Schweinen dieselben Effekte hervorrufen wie die WH-Gene. Ob er das auch tut, versuchten Pursel et al. zu testen. Sie stellten mit einem menschlichen IGF-1-Gen vier transgene Schweine her.³¹ Das einzige dieser vier Tiere, das den IGF-1 dann bildete, starb jedoch kurz vor dem Test, die den Erfolg hätten beweisen sollen. Einen neuen Anlauf nahmen Coleman et al.³² Sie arbeiteten wieder mit einem menschlichen IGF-1-Gen, versuchten aber diesmal die Expression des Transgens auf das Muskelgewebe zu beschränken. Damit wollten sie verhindern, dass die transgenen Tiere eine zu hohe WH-Konzentration im Blut aufwiesen. Ihr Ansatz war erfolgreich. Die transgenen Schweine hatten nicht nur weniger Fett und mehr mageres Gewebe als die unveränderten Schweine, sie blieben dabei - nach Aussage von Pursel et al. - auch noch gesund.³³

J.T., Hazelton, I.G. & Ward, K.A. (1989). The production of transgenic Merino sheep by microinjection of ovine metallothionein-ovine growth hormone fusion genes. *Reprod. Fert. Dev.*, Vol. 1, S. 147 – 155.

²⁸ Pursel et al. (1997). Transfer of an ovine metallothionein-ovine growth hormone fusion gene into swine. *Journal of Animal Science*, Vol. 75, S. 2208 – 2214.

²⁹ Wieghart et al. (1990). Production of transgenic pigs harbouring a rat phosphoenolpyruvate carboxykinase-bovine growth hormone fusion gene. *Journal of reproduction and Fertility*, Vol. 41, Supplement, S. 89 – 96.

³⁰ Nottle et al. (1999). Production and analysis of transgenic pigs containing a metallothionein porcine growth hormone gene construct. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), *Transgenic animals in agriculture*. CAB International, S. 145 – 156.

³¹ Pursel et al. (1989). Genetic engineering of livestock. *Science*, Vol. 244, S. 1281 – 1288.

³² Coleman et al. (1995). Regulatory sequences from the avian skeletal α -actin gene directs high level expression of human insulin-like growth factor-I cDNA in skeletal muscle of transgenic pigs. *Journal of Animal Science*, Vol. 73, Suppl. 1, S. 145.

³³ Pursel et al. (1999). Expression of insulin-like growth factor-I in skeletal muscle of transgenic swine. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), *Transgenic animals in agriculture*. CAB International, S. 141.

2.1.3 Hormon-freisetzender Faktor

Wie der IGF-1 erhöht auch der Hormon-freisetzende Faktor (GRF) die Konzentration der Wachstumshormone. Versuche mit GRF-transgenen Schafen und Schweinen brachten keine Erfolge. Die transgenen Schafe produzierten zwar wie erwünscht mehr Wachstumshormon, reagierten darauf aber wie die weiter oben beschriebenen Schafe, die WH-Gene besaßen. Und bei den GRF-transgenen Schweinen blieb die erhöhte Bildung von Wachstumshormonen aus.³⁴

2.1.4 β -Agonisten

Die Substanz Clenbuterol wirkt gegen Husten und hemmt die Wehen. Verabreicht man Clenbuterol in hohen Dosen an Nutztiere, so steigern die ihr Wachstum. In den USA ist diese Verwendung verboten, was jedoch nicht verhindert das Clenbuterol in US-amerikanischen Tierschauen als Dopingmittel eingesetzt wird.

β -Agonisten sind dem Clenbuterol ähnlich. Diese Eigenschaft will sich die amerikanische Firma MERCK zu Nutze machen. Sie hat ein Patent für transgene Nutztiere beantragt, die mehr Rezeptoren für β -Agonisten besitzen und deshalb besonders gut auf die Leistungssteigerer reagieren.³⁵

2.2 Krankheitsresistente Tiere

«Leistung ist Ausdruck von Gesundheit» – diese Gleichung gilt in der Tierhaltung nicht mehr³⁶. Getrimmt auf Hochleistung leben Kühe, Schweine und Hühner ständig an der Grenze ihrer Belastungsfähigkeit, symptomfrei bleiben sie oft nur dank Medikamenten und Impfstoffen. Mehr Milch, mehr Fleisch, mehr Eier – die konventionelle Tierzucht hat ihre Ziele erreicht. Die einseitige Ausrichtung auf Hochleistung ging jedoch nicht schadlos an den Tieren vorbei. Gestresste und krankheitsanfällige Tiere sind die Folgen. Das Ausmass der zucht- und haltungsbedingten Krankheiten bleibt dabei durch den steigenden Medikamenteneinsatz kaschiert³⁷ und taucht erst in der Endabrechnung der Tierproduzenten auf. Zehn bis zwanzig Prozent der Produktionskosten werden nach Pursel durch kranke Tiere verursacht.³⁸ Der hohe Anteil macht klar, dass die TierzüchterInnen nicht an das Wohl der Tiere denken, wenn sie nun neben der Hochleistung auch die Widerstandsfähigkeit als Zuchtziel ins Auge fassen. Krankheitsresistente Tiere machen das Geschäft lukrativer; und das nicht nur, indem sie die Medikamentenkosten senken. Sie sollen nämlich auch das Vertrauen der KonsumentInnen zurückgewinnen, die sich weigern, Eier, Fleisch oder Milch zu kaufen, die mit Medikamentenrückständen belastet sind.

Wollen die ZüchterInnen die kranken Tiere wieder fit machen, so sprechen sie von Gesundheit – meinen dabei aber Anpassung an Hochleistung und künstliche Haltungsbedingungen. Und da diese Anpassung mit konventionellen Zuchtprogrammen allein nicht gelingt, setzen die TierzüchterInnen ihr Hoffnung auf die Gentechnik. Sie soll die Tiere gezielt widerstandsfähiger

³⁴ Pursel, V.G. (1998). Modification of production traits. In: Clark, A.J. (Ed.), Animal breeding. Technology for the 21st century. Harwood Academic Publishers, S. 187.

³⁵ Idel, A. (1999). Mehr Fleisch, mehr Milch, mehr Krankheiten. GID, Nr. 132, April/Mai 1999, S. 7.

³⁶ Idel, A. (1999). Mehr Fleisch, mehr Milch, mehr Krankheiten. GID, Nr. 132, April/Mai 1999, S. 8.

³⁷ Idel, A. (1999). Krankheitsresistenz durch Genmanipulation. Ökologie & Landbau Vol 122, Nr. 4, S. 28.

³⁸ Pursel, V.G. (1998). Modification of production traits. In: Clark, A.J. (Ed.), Animal breeding. Technology for the 21st century. Harwood Academic Publishers, S. 194.

machen und die Defekte der Hochleistungszucht reparieren. Wie die Anpassung geschehen soll, weiss man schon. Nach Niemann et al. bietet die Gentechnik folgende Möglichkeiten:³⁹

- Modulierung des Immunsystems
- Transfer von spezifischen Krankheitsresistenz-Genen
- Interne Immunisierung (Expression von Immunoglobulin-Genen)
- Intrazelluläre Immunisierung (Expression eines viralen Gens, das die Vermehrung des Virus verhindert)
- Gezielte Zerstörung von Genen, die Krankheiten hervorrufen
- Somatischer Gentransfer.

Die Strategien sind ausgeheckt, das wie ist bekannt. Noch gibt es jedoch kaum Anzeichen dafür, ob die Gentechnik die Erwartungen auch Erfüllen kann. Auf jeden Fall waren die ersten Versuche auf jeden Fall waren nicht erfolgversprechend (siehe weiter unten). Zu hoch sind die Hürden, die den TierzüchterInnen zur Zeit noch den Weg versperren. Viele Tierkrankheiten sind polygener Natur, die Kenntnisse des Immunsystems sind limitiert und die Identifikation und Klassifikation der Tiergene sind noch nicht abgeschlossen – drei Gründe, die den Fortschritt beschränken. Das deutsche Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten kommt denn auch zum Schluss, dass «transgene Tiere zur Verbesserung der Tiergesundheit in den nächsten Jahren nicht in Zuchtprogramme integriert werden. Die Erstellung widerstandsfähiger transgener Tiere ist ein Gebiet, auf dem eine umfangreiche Erkenntnisforschung notwendig ist».⁴⁰

Transgenes Tier	Transgen	Quelle des Transgens	Literatur
Schwein	Mx1-Gen	Maus	41
Schwein	Immunoglobulin-Gene	Maus	42
Schwein	Immunoglobulin-Gene	Maus	43
Schaf	Immunoglobulin-Gene	Maus	44
Schaf	Hüllprotein-Gen	Visna Virus	45
Huhn	Hüllprotein-Gen	Leukosis Virus	46

Tabelle 3: Beispiele von Versuchen, Tiere gentechnisch krankheitsresistent zu machen.

³⁹ Niemann, H., Hahn, J. & Marquardt, O.-W. (1996). Entwicklungsstand und Anwendungsperspektiven der Gentechnologie in der Tierproduktion. In: Sill, B. (Hrsg.), Bio- und Gentechnologie in der Tierzucht, Ulmer Verlag, Stuttgart, S. 56.

⁴⁰ Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (1998). Biotechnologie für den Agrar- und Ernährungsbereich. Angewandte Wissenschaft, Heft 471, S. 110.

⁴¹ Müller et al. (1992). Transgenic pigs carrying cDNA copies encoding the murine Mx1 protein which confers resistance to influenza virus infection. Gene, Vol. 121, S. 263 – 270; Müller, M. & Brem, G. (1994). Transgenic strategies to increase disease resistance in livestock. Reproduction Fertility and Development, Vol. 6, S. 605 – 613.

⁴² Lo et al. (1991). Expression of mouse IgA by transgenic mice, pigs and sheep. European Journal of Immunology, Vol. 21, S. 1001 – 1006.

⁴³ Weidle, U.H., Lenz, H. & Brem, G. (1991). Genes encoding a mouse monoclonal antibody are expressed in transgenic mice, rabbits and pigs. Gene, Vol. 98, S. 185 – 191.

⁴⁴ Lo et al. (1991). Expression of mouse IgA by transgenic mice, pigs and sheep. European Journal of Immunology, Vol. 21, S. 1001 – 1006.

⁴⁵ Clements et al. (1994). Development of transgenic sheep that express the visna virus envelope gene. Virology, Vol. 200, S. 370 – 380.

⁴⁶ Salter, D.W. & Crittenden, L.B. (1989). Transgenic chickens: insertion of retroviral vectors into the chicken germline. Theor. Appl. Genet, Vol. 77, S. 457 – 461.

Die TierzüchterInnen geben die Hoffnung nicht auf, treiben die Erkenntnisforschung voran und konzentrieren sich dabei auf einzelne Resistenzgene. Ob sich die aufwendige Suche nach Krankheitsresistenz-Genen lohnt? Für die Tiere wohl kaum. Denn «es wäre ein fataler Irrtum, das Hinzufügen und Entfernen von Genen im Erbgut landwirtschaftlich genutzter Tiere als eine Therapie im Sinne einer Ursachenvermeidung zu begreifen. Im Erfolgsfalle handelte es sich bestenfalls um Schadensbegrenzung. Denn die tatsächlichen Ursachen liegen in der Selektion auf falsche Zuchtziele und in artwidrigen Haltungsbedingungen begründet.»⁴⁷

2.2.1 Natürlich vorkommende Krankheitsresistenzen

Bisher kennt man nur einige wenige Krankheitsresistenz-Gene. Eines davon ist das Mx1-Gen der Maus. Es sorgt dafür, dass die kleinen Nager gegen Influenzaviren resistent sind. Ob das Mäusegen die gleiche Leistung auch in transgenen Schweinen vollbringt, untersuchten Müller et al.⁴⁸ Sie kreierte dazu drei verschiedene Genkonstrukte und integrierten sie ins Erbgut von Schweinen. Das Resultat war ernüchternd: Zwei der Genkonstrukte rearrangierten sich während der Integration und verloren dadurch ihre Funktion. Das dritte blieb zwar ganz und wurde in zwei transgenen Schweinen auch abgelesen, aber das Mx1-Protein konnte in den Geweben nicht nachgewiesen werden. Rückblickend vermuten die Wissenschaftler, dass die unkontrollierte Expression des Mx1-Gens sich tödlich auf die Embryonalentwicklung auswirkte und daher nur solche transgene Tiere überlebten, die das Mx1 schwach exprimierten.⁴⁹ Das Beispiel zeigt einmal mehr, wie wichtig die Regulierung der Transgenexpression ist.

Weitere Versuche mit natürlichen tierischen Krankheitsresistenz-Genen wurden bisher nicht durchgeführt. In Australien ist man jedoch dabei, transgene Schafe herzustellen, die ein pflanzliches Abwehrprotein besitzen. Ein vom Tabak stammendes Chitinase-Gen wird zur Zeit so modifiziert, dass es im Schafsgenom optimal exprimiert werden kann. Die transgenen Schafe sollen dann das Chitinase-Gen in ihren Schweißdrüsen exprimieren und sich damit gegen Larven der *Bowfly* (*Lucillia cuprina*) wehren können.⁵⁰

2.2.2 Interne Immunisierung

Unter interner Immunisierung versteht man folgendes: Ein Tier wird mit einem Immunoglobulin-Gen transgen gemacht, das spezifisch gegen ein bestimmtes Pathogen wirkt. Das transgene Tier ist dann immun, bevor es mit dem Pathogen in Kontakt kommt. Bei Mäusen konnte man diese «angeborene» Immunisierung erfolgreich herbeiführen. Nicht so bei Nutztieren. Hier schlugen die bisherigen Versuche fehl. Zum Beispiel bei Lo et al.: Sie produzierten transgene Schafe und Schweine mit monoklonalen Antikörpern der Maus.⁵¹ Im Serum des transgenen Schafs konnten die Antikörper, die gegen pathogene Bakterien wirken, nicht nachgewiesen werden. Und das transgene Schwein hatte zwar Antikörper im Serum, aber ohne Wirkung. Da die Antikörper das Antigen kaum banden, konnten sie ihre Funktion nicht erfüllen. In einem ähnlichen Versuch stellten Weidle et al. transgene Schweine her, die ebenfalls monoklonale

⁴⁷ Idel, A. (1999). Krankheitsresistenz durch Genmanipulation. *Ökologie & Landbau* Vol 122, Nr. 4, S. 29.

⁴⁸ Müller et al. (1992). Transgenic pigs carrying cDNA copies encoding the murine Mx1 protein which confers resistance to influenza virus infection. *Gene*, Vol. 121, S. 263 – 270.

⁴⁹ Müller, M. & Brem, G. (1994). Transgenic strategies to increase disease resistance in livestock. *Reproduction Fertility and Development*, Vol. 6, S. 605 – 613.

⁵⁰ www.anprod.csiro.au/research/ward/ward.htm

⁵¹ Lo et al. (1991). Expression of mouse IgA by transgenic mice, pigs and sheep. *European Journal of Immunology*, Vol. 21, S. 1001 – 1006.

Antikörper der Maus besaßen.⁵² Doch auch sie blieben den Beweis schuldig, dass eine interne Immunisierung mit Hilfe der Gentechnik möglich ist. Der Plan auf dem Reisbrett scheitert auf molekularer Ebene. Abweichende post-translationale Modifikationen und unerwünschte Immunoglobulinformierungen führten zu anomal grossen Antikörpern und reduzierter Antigenbindung. Dennoch sollen die beiden Versuche das grosse Potential der internen Immunisierung illustrieren. Offen bleibt, ob sich der Aufwand auch wirklich lohnen wird, der jetzt für die Optimierung des Ansatzes nötig ist. Schliesslich gilt es zu bedenken, dass Pathogene eine monogenetische Immunität schnell umgehen könnten.⁵³

2.2.3 Intrazelluläre Immunisierung

Von intrazellulärer Immunisierung spricht man, wenn ein intrazellulär exprimiertes Transgen die Replikation eines Pathogens im Wirtsorganismus verhindert. Streng genommen würden auch die oben beschriebenen Versuche mit dem Mx1-Gen der Maus dazu gehören. Doch im Folgenden ist nur vom klassischen Ansatz die Rede, bei dem virale Gene ins Erbgut der Nutztiere eingefügt werden. Ob dieser Ansatz funktioniert, testeten Clements et al. an transgenen Schafen.⁵⁴ Sie nahmen dazu das Hüllprotein-Gen des Visnavirus und fügten es ins Erbgut der Nutztiere ein. Alle drei resultierenden transgenen Schafe exprimierten das virale Gen und blieben gesund dabei. Zwei der drei Tiere bildeten jedoch Antikörper gegen das fremde Hüllprotein. Während die Expression des Transgens erfolgreich gelang, fehlt der endgültige Beweis für den Erfolg des Ansatzes bis heute. Es ist nicht bekannt, ob sich die transgenen Schafe gegen das häufig vorkommende Visnavirus wehren können.

Dass der Ansatz funktionieren könnte, zeigte man bei transgenen Hühnern. So gelang es einer Gruppe von ForscherInnen Hühner gegen das Leukosis Virus resistent zu machen, indem sie ein Hüllprotein-Gen des Virus ins Erbgut der Vögel transferierten.⁵⁵ Der Erfolg hat jedoch seine Kosten. Die transgenen Hühner legten weniger Eier und wurden später sexuell reif.⁵⁶

2.3 Milchqualität

Dank der konventionellen Tierzucht ist die Milchleistung der Kühe stark gestiegen. Zu stark, wie man zuweilen denken könnte, ist doch das Angebot an Milch viel schneller gewachsen als die Nachfrage. Das Resultat sind Milchseen, subventionierte Milchpreise und schlechte ökonomische Aussichten für Milchproduzenten. Einen Ausweg aus dieser Lage will die Gentechnik bieten. Während die konventionelle Selektion noch ausschliesslich die

⁵² Weidle, U.H., Lenz, H. & Brem, G. (1991). Genes encoding a mouse monoclonal antibody are expressed in transgenic mice, rabbits and pigs. *Gene*, Vol. 98, S. 185 – 191.

⁵³ Müller, M. & Brem, G. (1996). Intracellular, genetic or congenital immunisation – transgenic approaches to increase disease resistance of farm animals. *Journal of Biotechnology*, Vol. 44, S. 235.

⁵⁴ Clements et al. (1994). Development of transgenic sheep that express the visna virus envelope gene. *Virology*, Vol. 200, S. 370 – 380.

⁵⁵ Crittenden, L.B. & Salter, D.W. (1992). A transgene, alv 6, that expresses the envelope of subgroup A avian leukosis virus reduces the rate of congenital transmission of a field strain of avian leukosis virus. *Poultry Science*, Vol. 71, S. 799 – 806; Salter et al. (1998). Response of chickens carrying germline insert ALVA 11 to challenge with a field strain of subgroup A avian leukosis virus. *Avian Disease*, Vol. 42, Nr.4, S. 781 – 786.

⁵⁶ Gavora et al. (1995). Influence of the alv 6 recombinant avian leukosis virus transgene on production traits and infection with avian tumor viruses in chickens. *Poultry Science*, Vol. 74, S. 852 – 863.

Milchmenge erhöhte, will die gentechnische Züchtung nun die Milchqualität verbessern und damit den Landwirten und Milchverarbeitern neue Märkte erschliessen.⁵⁷

Die Ziele, die man mit den transgenen Kühen erzielen will, sind vielfältig (vgl. Tabelle 4): Milch für Leute, die Laktose nicht verdauen; Milch mit weniger Fett; Milch mit mehr ungesättigten Fettsäuren, Milch für nutrazeutische Lebensmittel; Milch, die bei der Käseherstellung schneller gerinnt; Milch, die mehr Käse ergibt; vermenschlichte Milch für Säuglinge; Milch, die Salmonellen und Listerien selber abtötet.⁵⁸

Änderung	Konsequenz der Änderung
Erhöhte Mengen an α - und β -Kasein	Hitzestabilere Milch, erhöhter Calciumgehalt, effizientere Käseherstellung
Erhöhung der Phosphorylierungsstellen in Kasein	Erhöhter Calciumgehalt, Verbesserte Emulsifikation
Einfügung von Proteolytischen Stellen in Kasein	Verbesserte Reifung des Käses
Erhöhung der κ -Kasein Konzentration	Weniger Gelierung, weniger Koagulierungen
Weniger α -Laktalbumin	Weniger Laktose, erhöhtes Marktpotential von Weichkäse
Zufügen von menschlichem Laktoferrin	Verbesserte Eisenabsorption, Schutz gegen Darminfektionen
Zufügen von menschlichem Lysozym	Erhöhte antimikrobielle Aktivität, erhöhter Käseertrag
Zufügen von proteolytischen Stellen in κ -Kasein	Verbesserte Reifung des Käses
Verminderte Expression von Acetyl CoA Karboxylase	Weniger Fett, verbesserte Ernährungsqualität, verminderte Kosten bei der Milchherstellung
Kuhmilchproteine durch menschliche ersetzen	Vermenschlichung der Kuhmilch
Exprimierung von Immunoglobulin-Genen	Schutz der Kuhmilch gegen Erreger wie Salmonellen und Listerien.

Tabelle 4: Einige der vorgesehenen Änderungen der Milch; nach Pursel⁵⁹ und Wall et al.⁶⁰

Der Ziele gibt es also viele; die Absichten sind formuliert und die Strategien liegen bereit. Umgesetzt jedoch wird wenig. Abgesehen vom Bullen Herman, der ein menschliches Laktoferrin-Gen besitzt⁶¹, sind unseres Wissens bisher keine Versuche an Rindern gemacht worden. Über die Klinge springen mussten jedoch zahlreiche Mäuse. An ihnen testete man, wie

⁵⁷ Bremel, R.D. (1996). Potential role of transgenesis in dairy production and related areas. *Theriogenology*, Vol. 45, S. 51.

⁵⁸ Karatzas, C.N. & Turner, J.D. (1997). Toward altering milk composition by genetic manipulation: current status and challenges. *Journal of Dairy Science*, Vol. 80, S. 2225 – 2232; Wall, R.J., Kerr, D.E. & Bondioli, K.R. (1997). Transgenic dairy cattle: genetic engineering on a large scale. *Journal of Dairy Science*, Vol. 80, S. 2213 – 2224; Jänne, J. & Alhonen, L. (1998). Transgenic livestock as bioreactors. In: Castro, F.O. & Jänne, J. (eds.), *Mammary gland transgenesis: therapeutic protein production*. Springer-Verlag, S. 161. Murray, J.D. & Maga, E.A. (1999). Changing the composition and properties of milk. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), *Transgenic animals in agriculture*. CAB International, S. 193.

⁵⁹ Pursel, V.G. (1998). Modification of production traits. In: Clark, A.J. (Ed.), *Animal breeding. Technology for the 21st century*. Harwood Academic Publishers, S. 189.

⁶⁰ Wall, R.J., Kerr, D.E. & Bondioli, K.R. (1997). Transgenic dairy cattle: genetic engineering on a large scale. *Journal of Dairy Science*, Vol. 80, S. 2221.

⁶¹ Krimpenfort et al. (1991). Generation of transgenic dairy cattle using in vitro embryo production. *Bio/Technology*, Vol. 9, S. 844 – 847.

sich verschiedene Genkonstrukte auf die Qualität der Milch auswirken.⁶² Dass der Schritt von der Maus zur Kuh bisher kaum gewagt wird, hat verschiedene Gründe. An erster Stelle sind dabei die Schwächen der Methoden zu nennen, die heute für die Herstellung transgener Kühe bereit stehen:^{63,64} Die Methoden sind ineffizient, sie verhindern eine gezielte Integration des Transgens, verunmöglichen nicht nur eine Bestimmung der Kopienzahl sondern auch der Genexpression, sie vereiteln eine Prognose des Geschlechts der transgenen Nachkommen und führen zu unerwünschten Positionseffekten. Das alles macht die Entwicklung transgener Kühe zu einem teuren und risikoreichen Unternehmen. Hinzu kommt, dass die Milchqualität der transgenen Kühe nicht vorausgesagt werden kann. Die Resultate, die man bei transgenen Mäusen macht, können in Kühen nicht immer wiederholt werden.⁶⁵ Ob sich der Aufwand lohnt, erfährt man also immer erst am Schluss. Und selbst wenn die Milchqualität die Erwartungen erfüllte, bliebe das Risiko, dass sich unerwünschte Nebenwirkungen des gentechnischen Eingriffs erst bei einer grossen Herde zeigen.⁶⁶ Einige Nebenwirkungen können jedoch bereits bei Einzeltieren beobachtet werden. So stellt man häufig fest, dass die Expression des Transgens sich nicht wie erhofft auf die Milchdrüse beschränkt, sondern auch in an anderen Geweben stattfindet. Ein Beispiel: Transgene Schafe bildeten ein Milchprotein der Maus zwar in ihren Milchdrüsen, aber zusätzlich auch in der Leber, in der Milz, in den Nieren, im Herzen und Rückenmark.⁶⁷ Die unkontrollierte, Organ-unspezifische Produktion fremder Proteine kann die Gesundheit der Tiere beeinträchtigen.⁶⁸ Und selbst wenn die Expression der fremden Gene perfekt kontrolliert ist, kann es zu gesundheitlichen Problemen kommen, da rekombinante Proteine von der Milch ins Blut transportiert werden können.⁶⁹ Solche Fälle gälte es auf jeden Fall zu verhindern, wollte man Milch für die Ernährung aus transgenen Kühen gewinnen.

Auf die beschriebenen Probleme stösst auch das Gene Pharming (vgl. Kapitel 3). Dort nimmt man die Schwierigkeiten aber in Kauf, da ein etwaiger Erfolg sehr hohe Gewinne verspricht und bei KonsumentInnen kaum auf Ablehnung stösst. Letzteres ist bei transgener Milch, die für die Ernährung bestimmt ist, viel eher zu erwarten. So haben letztendlich all die bestehenden Unsicherheiten verhindert, dass die Gentechnologie in der Milchindustrie mit dem gleichem Enthusiasmus aufgenommen wurde, wie im Gene Pharming. Sie erklären zudem, weshalb die Milchindustrie ihre Ziele bisher kaum in Angriff genommen hat. Das dürfte jedoch nicht so bleiben, liegt doch heute alles bereit, den Schritt von der Maus zur Kuh zu wagen. Die Milchgense sind isoliert und geklont, die Promotoren charakterisiert und die Genkonstrukte in

⁶² Eine Zusammenstellung dieser Versuche findet sich bei Wall, R.J., Kerr, D.E. & Bondioli, K.R. (1997). Transgenic dairy cattle: genetic engineering on a large scale. *Journal of Dairy Science*, Vol. 80, S. 2219 und Mercier, J.-C. & Vilotte, J.-L. (1997). The modification of milk protein composition through transgenesis: progress and problems. In: Houdebine, L.M. (ed.), *Transgenic animals*. Harwood Academic Publishers, S. 475.

⁶³ Eystone, W.H. (1998). Techniques for the production of transgenic livestock. In: Clark, A.J. (Ed.), *Animal breeding. Technology for the 21st century*. Harwood Academic Publishers, S. 167 - 181.

⁶⁴ Wall, R.J. (1996). Transgenic livestock: progress and prospects for the future. *Theriogenology*, Vol. 45, S. 57 – 68.

⁶⁵ Wall, R.J., Kerr, D.E. & Bondioli, K.R. (1997). Transgenic dairy cattle: genetic engineering on a large scale. *Journal of Dairy Science*, Vol. 80, S. 2222.

⁶⁶ Mercier, J.-C. & Vilotte, J.-L. (1997). The modification of milk protein composition through transgenesis: progress and problems. In: Houdebine, L.M. (ed.), *Transgenic animals*. Harwood Academic Publishers, S. 480.

⁶⁷ Wall et al. (1996). Synthesis and secretion of the mouse acidic protein in transgenic sheep. *Transgenic Research*, Vol. 5, S. 67 – 72.

⁶⁸ Jänne et al. (1998). Transgenic dairy cattle. In: Castro, F.O. & Jänne, J. (eds.), *Mammary gland transgenesis: therapeutic protein production*. Springer-Verlag, S. 188.

⁶⁹ Houdebine, L.M. (1995). The production of pharmaceutical proteins from the milk of transgenic animals. *Reproduction Nutrition Development*. Vol. 35, S. 609 – 617.

Mäusen getestet worden. Das alles weckt die Hoffnungen der GentechnikerInnen von neuem. In den Worten von Jean-Claude Mercier und Jean-Luc Vilotte, Mitarbeiter der französischen Forschungsanstalt INRA:⁷⁰ «Betrachtet man die Resultate, die bisher bei transgenen Mäusen erzielt wurden, so stellt die Veränderung der Milchezusammensetzung einen vielversprechenden Weg dar, um die bereits existierenden Milchprodukte zu verbessern und den Gebrauch der Milchkomponenten auszudehnen. (...) In naher Zukunft werden Kuhherden, die viele verschiedene Typen von Milch produzieren, den Konsumenten und der Industrie erlauben, *à la carte* die Milch auszuwählen, die am besten ihren Bedürfnissen entspricht». Die Ersten, die ihre Bedürfnisse stillen dürften, sind nach Ansicht von Mercier und Vilotte Babies, die keine Muttermilch bekommen.

2.3.1 Menschliche Kuhmilch

Die Muttermilch gilt als die beste Ernährung für den Säugling. Sie ist optimal auf die Bedürfnisse der Babies abgestimmt, passt ihren Gehalt an Kohlenhydraten, Eiweiss, Fett, Vitaminen und Mineralstoffen den wechselnden Ansprüchen an und schützt vor Infektionen. Das alles geht Kindern verloren, die ausschliesslich mit Kuhmilchpräparaten ernährt werden. Die Kuhmilch unterscheidet sich in ihrer Zusammensetzung von der menschlichen Milch. Die Idee liegt also nahe, die Zusammensetzung der Kuhmilch anzupassen, um auch die Bedürfnisse der «Flaschenkinder» optimal zu erfüllen. Wie das geschehen könnte? Der beste Weg wäre, die Kuhmilchprotein-Gene durch homologe, menschliche Gene zu ersetzen. Da die dafür nötigen Methoden erst in der Entwicklung stecken, begnügt man sich vorerst mit der Idee, diejenigen menschlichen Milchprotein-Gene dem Kuhgenom hinzuzufügen, die dort untervertreten sind. Dazu gehören zum Beispiel die Gene für Lysozym und Laktoferrin.⁷¹ Beide Enzyme wirken antibakteriell und schützen somit vor Infektionen. Das Laktoferrin soll zusätzlich noch dabei helfen, Eisen aus der Milch aufzunehmen.

Einen Versuch unternahm die niederländische Firma GenePharming mit dem Laktoferrin. Das Resultat: Herman – der erste transgener Bulle der Welt.⁷² Herman hat ein menschliches Laktoferringen im Erbgut; seine Töchter sollten daher einen Laktoferrin-reichen Ersatz für Muttermilch produzieren. Ob sie das auch tun, ist nicht bekannt. Seit der Lancierung von Herman, ist es still um ihn geworden; die geplante Herde von mehreren hundert transgenen Laktoferrin-produzierenden Kühen steht nicht auf den Feldern. Da nie Informationen über die Expression des Transgens in der Milch veröffentlicht wurden⁷³, darf man vermuten, dass die weiblichen Nachkommen Hermans das Transgen nicht richtig exprimieren. Ein Effekt, der zum Leid der GentechnikerInnen oft beobachtet werden kann.

Die beiden INRA-Mitarbeiter Mercier und Vilotte dürften sich getäuscht haben, und so sind es nicht Babies sondern eher laktose-intolerante Menschen, die als erste in den Genuss von Milch aus transgenen Kühen kommen könnten.

⁷⁰ Mercier, J.-C. & Vilotte, J.-L. (1997). The modification of milk protein composition through transgenesis: progress and problems. In: Houdebine, L.M. (ed.), Transgenic animals. Harwood Academic Publishers, S. 480.

⁷¹ Karatzas, C.N. & Turner, J.D. (1997). Toward altering milk composition by genetic manipulation: current status and challenges. *Journal of Dairy Science*, Vol. 80, S. 2230. Pursel, V.G. (1998). Modification of production traits. In: Clark, A.J. (Ed.), *Animal breeding. Technology for the 21st century*. Harwood Academic Publishers, S. 191.

⁷² Krimpenfort et al. (1991). Generation of transgenic dairy cattle using in vitro embryo production. *Bio/Technology*, Vol. 9, S. 844 – 847.

⁷³ Pursel, V.G. (1998). Modification of production traits. In: Clark, A.J. (Ed.), *Animal breeding. Technology for the 21st century*. Harwood Academic Publishers, S. 191.

2.3.2 Laktose-arme Milch

Viele Menschen vertragen Kuhmilch nicht, da sie den Milchzucker Laktose schlecht verdauen. In Mitteleuropa und Nordamerika sind fünf bis fünfzehn Prozent der Bevölkerung von der Laktosemalabsorption betroffen, in Asien und unter der schwarzen Bevölkerung Afrikas und Amerikas sind es sogar 70 bis 100 Prozent.⁷⁴ Den Betroffenen fehlt eine ausreichende Menge des milchzuckerspaltenden Enzyms Laktase. Der Milchzucker bleibt ungespalten, wird deshalb vom Darm schlecht aufgenommen und verursacht schliesslich Bauchkrämpfe und Durchfälle.

Wer heute Laktose schlecht verdaut, greift kaum zu Milchprodukten. Doch nicht mehr lange und auch die Malabsorbierer werden symptomfrei Kuhmilch geniessen können. Die wertvolle Ernährungsquelle soll ihnen nämlich dank der Gentechnik neu erschlossen werden. Wie die Milch nutzbar gemacht werden kann, dafür gibt es zwei Strategien. Eine besteht darin, den Milchzucker nach dem Melken aus der Milch zu entfernen, indem man Laktase zugibt. Da dieser Ansatz jedoch einen zusätzlichen Produktionsschritt nötig macht und die Herstellungskosten erhöht, wollen GentechnikerInnen das Problem doch lieber gleich am Ursprung lösen. Sie wählen die zweite Strategie und denken darüber nach, wie sie Kühe gentechnisch verändern müssten, damit diese verdaubare Milch produzieren. Eine ihrer Überlegungen mündet in der Lösung, die Bildung des Milchzuckers zu unterbinden. Möglich wäre das auf zwei Arten: Entweder man schaltet die für die Milchzuckerbildung verantwortlichen Gene aus oder verhindert deren Expression. Das beides gelingen kann, zeigte man an transgenen Mäusen. Stinnakre et al. schalteten das für die Laktosebildung verantwortliche α -Laktalbumin aus.⁷⁵ Die Milch der resultierenden *Knock-out*-Mäuse hatte tatsächlich keine Laktose mehr; sie war dafür aber derart viskos geworden, dass Jungmäuse sie nicht mehr saugen konnten. Das gleiche beobachteten L'Huillier et al., wenn sie in transgenen Mäusen die Expression des α -Laktalbumins mit einem Ribozym unterbanden.⁷⁶ Dass die beiden Versuche bisher bei Kühen nicht wiederholt wurden, liegt weniger in der unerwünscht hohen Viskosität der Milch, als in den Schwächen der verwendeten Methoden: Ribozyme wirken noch zu ineffizient und sind daher nicht geeignet für die teure Herstellung transgener Kühe. Und die *Knock-out*-Methode gelingt bis anhin nur bei Mäusen. Vielversprechender ist deshalb die zweite Möglichkeit, die sich die GentechnikerInnen überlegen: die Bildung von Laktase in der Milch transgener Kühe. Französische Forscher haben in Mäusen den Test gemacht.⁷⁷ Sie fügten ein Laktase-Gen der Ratte an einen geeigneten Promotor, inserierten das Genkonstrukt ins Erbgut und erhielten transgene Mäuse, die in ihren Milchdrüsen Laktase produzieren und damit den unerwünschten Milchzucker wegverdauten. Die resultierende Qualität der Mäusmilch war zufriedenstellend: arm an Laktose und normale Viskosität. Dass die französischen Forscher den Versuch nun auch an Kühen wagen, ist anzunehmen. Nach Ansicht von Brumme Whitelaw vom Roslin Institute sind die Resultate der französischen Gruppe ein wichtiger Schritt hin zu transgenen Kühen, die Laktose-arme Milch produzieren.⁷⁸

⁷⁴ Katalyse (Hrsg.) (1995). Neue Chemie in Lebensmitteln. Zweitausendeins, Frankfurt am Main, S. 253.

⁷⁵ Stinnakre et al. (1994). Creation and phenotyping analysis of α -lactalbumin-deficient mice. Proceedings of the National Academy of Science USA, Vol. 91, S. 6544 – 2839.

⁷⁶ L'Huillier et al. (1996). Efficient and specific ribozyme-mediated reduction of bovine α -lactalbumin expression in double transgenic mice. Proceedings of the National Academy of Science USA, Vol. 93, S. 6698

⁷⁷ Jost et al. (1999). Production of low-lactose milk by ectopic expression of intestinal lactase in the mouse mammary gland. Nature Biotechnology, Vo. 17, Februar 1999, S. 160 – 164.

⁷⁸ Whitelaw, B. (1999). Toward designer milk. Nature Biotechnology, Vo. 17, Februar 1999, S. 135 – 136.

Bis es soweit ist, dürften jedoch noch einige Jahre vergehen. Die Milchindustrie wird sich gedulden müssen, bis die Gentechnik ihr den grossen Markt der Laktosemalabsorbierer erschliesst.

Die Veränderung der Milchqualität steht und fällt mit der Effizienz der Methoden, die für die Herstellung transgener Kühe verfügbar sind.⁷⁹ Zur Zeit richten sich alle Hoffnungen auf die neue Methode des Kerntransfers (vgl. Kapitel 4). Verbessert er die Effizienz nicht wesentlich, werden Milchprodukte aus transgenen Kühen die Ladenregale nicht erobern.

2.3.3 Bessere Milch für Ferkel

GentechnikerInnen haben es nicht nur auf menschliche KonsumentInnen abgesehen. Sie wollen auch Ferkeln bessere Milch servieren. So haben Bleck et al. transgene Schweine hergestellt, die das α -Laktalbumin-Gen des Rindes exprimieren.⁸⁰ Läuft alles nach Wunsch, werden die transgenen Schweine nicht nur mehr Milch produzieren, sondern auch energiereichere. Die saugenden Ferkel letztendlich sollen die Anstrengungen von Bleck et al. mit einem erhöhten Wachstum belohnen. Die Experimente, die den Erfolg dieses Ansatzes belegen, sind noch nicht veröffentlicht worden.

2.4 Wollproduktion

Für Australien und Neuseeland ist der Export von Wolle ein wichtiger Wirtschaftsfaktor. An verschiedenen Universitäts- und privaten Instituten versucht man deshalb, die Wollproduktion und -qualität zu optimieren (Tabelle 5). Mit der konventionellen Züchtung wurde zwar bereits einiges erreicht, aber jetzt soll mit Hilfe transgener Schafe die Wollproduktion noch zusätzlich gesteigert werden. Eines der Ziele: die gleiche Wollmenge mit weniger Schafen zu gewinnen. Dies würde den teuren Aufwand für das Scheren reduzieren und den Wollproduzenten einen ökonomische Vorteil bringen. Auch die Natur soll profitieren. Bilden Schafe mehr Wolle, kann ihr Bestand verkleinert werden, wodurch die Bodenerosion vermindert wird.

Transgen	Quelle des Transgens	Zweck	Institut/ Unternehmen
Serin-Transacetylase, O-Acetylserin Sulphydrolase	<i>Escherichia coli</i>	Steigerung der Produktion	CSIRO
Serin-Transacetylase, O-Acetylserin Sulphydrolase	<i>Salmonella typhimurium</i>	Steigerung der Produktion	University of Adelaide, Australia
Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor I	Schaf	Steigerung der Produktion	Lincoln University, Canterbury, New Zealand
Chloramphenicol Acetyltransferase	Bakteriell	Steigerung der Produktion	Lincoln University, Canterbury, New Zealand
Keratin IF	Schaf	Verbesserung der Qualität	University of Adelaide, Australia

Tabelle 5: Gentechnische Ansätze für die Verbesserung der Wollproduktion und -qualität.

⁷⁹ Bremel, R.D. (1996). Potential role of transgenesis in dairy production and related areas. *Theriogenology*, Vol. 45, S. 56.

⁸⁰ Bleck et al. (1996). Production of transgenic swine containing the bovine α -lactalbumin gene. *Theriogenology*, Vol. 45, S. 347.

2.4.1 Mehr Wolle

Keratin ist das wichtigste Protein der Wollfasern. Es enthält sehr viel Cystein, eine Aminosäure, die das Schaf selber aus Methionin herstellt oder aus der Nahrung aufnimmt. Da das Cystein der limitierende Faktor ist für die Wollproduktion, versorgt man die Schafe mit einer möglichst hohen Menge dieser Aminosäure. Zum Leid der Wollproduzenten kann das Schaf die Aminosäuren aus der Nahrung nicht optimal nutzen.⁸¹ Dem soll nun nachgeholfen werden, indem man das Erbgut der Schafe mit den Genen bestückt, deren Produkte Cystein direkt aus Serin und Schwefel herstellen können – ein Syntheseweg, den die Schafe nicht besitzen, jedoch in Bakterien häufig vorkommt.

Serin-Transacetylase und O-Acetylserin Sulfhydrylase sind die beiden bakteriellen Enzyme, die aus den Pansensubstraten Serin und Schwefelwasserstoff Cystein bilden können. Die dazu gehörigen Gene wurden sowohl aus *Salmonella thyphimurium* als auch aus *Escherichia coli* isoliert und kloniert.⁸² Ob die Gene auch in Säugetieren ihre Funktion erfüllen und welche Promotoren dazu nötig sind, testete man erst in Zellkulturen und dann in transgenen Mäusen. Anschliessend fügte man die Genkonstrukte, die die besten Resultate lieferten, ins Erbgut der Schafe ein.

Ward et al. von der Commonwealth Scientific Industrial Research Organization (CSIRO) führten die ganze Prozedur mit den Genen aus *Escherichia coli* durch.⁸³ Während sie bei Mäusen noch zufriedenstellende Resultate bekamen, verlief der Versuch am Schaf ernüchternd. Zwar konnten die australischen Forscher vier transgene Schafe produzieren, welche die bakteriellen Gene exprimierten, doch das Niveau dieser Expression war enttäuschend tief. Das Gleiche widerfuhr auch den WissenschaftlerInnen von der University of Adelaide. Sie versuchten, die Wollproduktion mit den beiden Genen aus *Salmonella thyphimurium* zu steigern. Ihre Versuche mit transgenen Mäusen waren ermutigend und so stellten sie drei verschiedene transgene Schaflinien her, jede mit einem anderen Promotor. Doch keiner dieser drei unterschiedlichen Steuerelemente konnte die Salmonellen-Gene im Pansen der transgenen Schafe richtig aktivieren.⁸⁴ Die WissenschaftlerInnen gaben nicht auf und versuchten einen weiteren Promotor aus. Anders als im ersten Anlauf, nahmen sie diesmal einen Promotor, der für den Pansen von Schafen spezifisch ist. Das Resultat war jedoch wieder enttäuschend. Von den sieben transgenen Schafen, welche die WissenschaftlerInnen herstellen konnten, exprimierte nur eines die bakteriellen Gene im Pansen. Die Genexpression war zudem nicht nur schwach, sondern ging nach sechs Monaten ganz verloren.⁸⁵ Auch wenn die bakteriellen Gene keinen Erfolg brachten, geben sich die WissenschaftlerInnen ein Stück weit zufrieden; haben sie doch

⁸¹ Pursel, V.G. (1998). Modification of production traits. In: Clark, A.J. (Ed.), Animal breeding. Technology for the 21st century. Harwood Academic Publishers, S. 192.

⁸² Pursel, V.G. (1998). Modification of production traits. In: Clark, A.J. (Ed.), Animal breeding. Technology for the 21st century. Harwood Academic Publishers, S. 192.

⁸³ Ward et al. (1999). The utilization of bacterial genes to modify domestic animal biochemistry. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), Transgenic animals in agriculture. CAB International, S. 157 – 176.

⁸⁴ Bawden et al. (1995). Expression of bacterial cysteine biosynthesis genes in transgenic mice and sheep: towards a new amino acid biosynthesis pathway and improved wool growth. Transgenic Research, Vol. 4, S. 87 – 104. Powell et al. (1994). Transgenic sheep and wool growth: Possibilities and current status. Reproduction Fertility and Development, Vol. 6, S. 619.

⁸⁵ Powell et al. (1994). Transgenic sheep and wool growth: Possibilities and current status. Reproduction Fertility and Development, Vol. 6, S. 615 – 623.

mit ihren Versuchen gezeigt, dass es möglich ist, neue biochemische Synthesewege in Säugetiere einzufügen.⁸⁶

Neuseeländische WissenschaftlerInnen von der Lincoln University in Canterbury wählten einen anderen Weg als ihre australischen KollegInnen. Sie nahmen das Schaf-eigene Gen für den Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktor 1 (IGF 1) und versuchten es gezielt in den wollproduzierenden Zellen der transgenen Schafe zu exprimieren. Dort soll der IGF 1 die Herstellung von Wollfasern beschleunigen. Der erwünschte Effekt trat ein. Zwei der fünf hergestellten transgenen Schafe bildeten den IGF 1 in ihrer Haut und die Felle ihre Nachkommen wogen 6.2 Prozent mehr als bei nicht-transgenen Schafen.⁸⁷ Unerwünschte Nebenwirkungen konnten die WissenschaftlerInnen keine feststellen. Nach ihrer Ansicht ist dies der erste Beweis, dass es grundsätzlich möglich ist, Produktionseigenschaften mit Hilfe der Gentechnik erfolgreich zu verbessern, ohne dabei die Tiere gesundheitlich schwer zu schädigen.⁸⁸ Schadlos blieben auch die Nachkommen (G2) der ersten transgenen Generation. Der Produktionsvorteil jedoch, der ging verloren. Obwohl das Transgen in einer mendelschen Art und Weise vererbt und auch exprimiert wurde, hörten die transgenen Schafe der zweiten Generation auf, mehr Wolle zu produzieren.⁸⁹

2.4.2 Bessere Wolle

Nicht nur mehr, sondern auch bessere Wolle will man von transgenen Schafen erhalten. Indem die Proteinzusammensetzung der Wollfasern geändert wird, sollen die Fasern gestärkt werden und bessere Färbungseigenschaften entwickeln. Um dies zu erreichen, fügten Powell et al. ein Schaf-eigenes Keratin-Typ-II-Gen ins Erbgut von Schafen ein.⁹⁰ Die vier resultierenden transgenen Tiere verloren zwar ihr Fell nicht, wie das transgenen Mäusen in den vorangehenden Tests getan hatten, zeigten dafür aber fast keine Veränderungen. Nur ein Schafsbock hatte ein ungewöhnliches Fell. Dessen schlechte Welleigenschaften und hoher Glanz entsprachen jedoch nicht dem erwünschten Resultat. Powell et al. waren dennoch zufrieden: «Der wichtigste Aspekt unserer Studie: Wir haben gezeigt, dass die Eigenschaften der Wollfasern durch die Transgenese verändert werden kann und diese Änderungen vererbbar sind. Betrachtet man die grosse Anzahl der Wollproteine, die man verändern könnte, und die wachsende Genbibliothek, die zur Verfügung steht, so wird klar, dass die Auswirkungen unserer Resultate auf die Wollindustrie bedeutend sind.»⁹¹

2.5 Diverses

Krankheitsresistenz, Fleisch-, Milch- und Wollproduktion sind die wesentlichen Bereiche in der Landwirtschaft, wo Forschung und Entwicklung an transgenen Nutztieren betrieben wird. Eine bisher geringe Rolle spielt die Produktion von Biomaterialien, wie sie zum Beispiel die

⁸⁶ Ward et al. (1999). The utilization of bacterial genes to modify domestic animal biochemistry. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), Transgenic animals in agriculture. CAB International, S. 171.

⁸⁷ Damak et al. (1996). Improved wool production in transgenic sheep expressing insulin-like growth factor I. *Bio/Technology*, Vol. 14, S. 185 – 188.

⁸⁸ Bullock et al. (1997). Improved wool production from insulin-like growth factor 1 targeted to the wool follicle in transgenic sheep. In: Houdebine, L.M. (ed.), Transgenic animals. Harwood Academic Publishers, S. 509.

⁸⁹ Su et al. (1998). Wool production in transgenic sheep: results from first-generation adults and second generation lambs. *Animal Biotechnology*, Vol. 9, Nr. 2, *abstract*.

⁹⁰ Powell et al. (1994). Transgenic sheep and wool growth: Possibilities and current status. *Reproduction Fertility and Development*, Vol. 6, S. 615 – 623.

⁹¹ Powell et al. (1994). Transgenic sheep and wool growth: Possibilities and current status. *Reproduction Fertility and Development*, Vol. 6, S. 621.

kanadische Firma Nexia Biotechnologies Inc. plant. Nexia will Ziegen so genetisch verändern, dass sie in ihrer Milch Spinnseide herstellen. Spinnseide gilt als eine der stärksten und strapazierfähigsten Faser und ruft im menschlichen Körper keine starken Abwehrreaktionen hervor. Das BioSteel® genannte Produkt von Nexia soll in Zukunft in verschiedenen medizinischen Bereichen zum Einsatz kommen, so zum Beispiel in Prothesen, bei Gewebereparatur oder in der Nerven Chirurgie.⁹²

Neben diesen hauptsächlich ökonomisch motivierten Einsatzgebieten haben TierzüchterInnen auch die KonsumentInnen im Visier. So denkt man etwa daran, das durch den BSE-Skandal angeschlagene Image von Kalbs- und Rindfleisch mit gentechnischen Mitteln wieder aufzupolieren. Indem man das Gen von Schafen, das resistent gegen BSE macht, in das Erbgut von Kühen einfügt und damit den ganzen Kuhbestand BSE-resistent macht, will man das BSE-Problem aus der Welt schaffen und das Vertrauen der Leute zurückgewinnen.⁹³

Ebenfalls um die Akzeptanz der Leute geht es bei den folgenden zwei Überlegungen. Da das Kupieren der Schwänze von Lämmern umstritten ist, könnte man doch Gene ins Erbgut einschleusen, die die Schwänze kürzer werden lassen. Und auch für die Leute, die in der Nähe von Schweineproduktionsanlagen wohnen und unter dem Gestank der Tiere leiden, bietet die Gentechnik eine Lösung an: Ein Gen, das den Schweinekot nicht mehr stinken lässt.⁹⁴ Auch den Schweineproduzenten will man das Leben erleichtern. Etwa indem man den Schweinen ein Gen einfügt, das die Tiere den Östrus anzeigen lässt. Da würde es den Produzenten leichter machen, den richtigen Zeitpunkt für die künstlichen Insemination festzustellen.⁹⁵

2.6 Ethische Bewertung

Der Einsatz der Gentechnik an Nutztieren in der Landwirtschaft ist rein wirtschaftlich begründet. Die Zielsetzungen sind gesteigerte Leistung sowie bessere und billigere Produkte. Die Tatsache, dass es sich bei diesen transgenen Tieren – im Unterschied etwa zu den transgenen Krankheitsmodellen in der medizinischen Forschung – um Objekte ausschliesslich ökonomischer Interessen handelt, führt in einer ethischen Bewertung dazu, dass die Produktion solcher Tiere abzulehnen ist. Die Herstellung transgener Nutztiere in der Landwirtschaft ist weder wirtschaftlich, ökologisch noch medizinisch notwendig. Es liegt für eine ethische Rechtfertigung der gentechnischen Eingriffe keine Existenznotwendigkeit⁹⁶ vor.

Die ethische Ablehnung transgener Nutztiere in der Landwirtschaft wird verstärkt, da die Produktion der Tiere sehr ineffizient, d.h. mit grossem Tierverschleiss und mit gravierenden Nebenwirkungen auf das Tier, abläuft. Zur unzureichenden, bloss ökonomischen Nutzenbegründung kommt noch ein untolerierbares Tierleid dazu.

Die gentechnischen Eingriffe an Nutztieren für die Landwirtschaft führen meist zu einer Ueberproportionalität des Tierkörpers mit Negativfolgen für die Tiere (z.B. Haltung, Fütterung

⁹² www.nexiabiotech.com/april261999.html

⁹³ Seidel, G.E. Jr. (1999). The future of transgenic farm animals. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), Transgenic animals in agriculture. CAB International, S. 276.

⁹⁴ Seidel, G.E. Jr. (1999). The future of transgenic farm animals. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), Transgenic animals in agriculture. CAB International, S. 276.

⁹⁵ Seidel, G.E. Jr. (1999). The future of transgenic farm animals. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), Transgenic animals in agriculture. CAB International, S. 276.

⁹⁶ Sitter-Liver, B. (1991). Transgene Tiere: Skandal oder Chance? In: Meier-Hayoz, Dutoit, B. und Saladin, P. (eds.), Zeitschrift für Schweizerisches Recht, Neue Folge, Band 110, I. Halbband, Heft 3, Band 132 der gesamten Folge, Helbing & Lichtenhahn Verlag AG, Basel, 1991, S. 301.

und Tötungsart). Es resultiert ein hoher Verletzungsgrad der Würde bzw. der Integrität der Tiere, sodass die Anwendung gentechnischer Methoden nicht zu legitimieren ist. Dies gilt um so mehr, da selbst wirtschaftliche und ernährungspolitische Gesichtspunkte diese Würdeverletzung nicht gleichermassen werden rechtfertigen können, wie dies vergleichsweise bei einer ethischen Beurteilung gentechnisch veränderter Versuchstiere im Interesse einer medizinisch begründbaren Krankheitsursachenforschung der Fall wäre.

Die Bundesrätliche Ethik-Studienkommission zur Gentechnologie im ausserhumanen Bereich kam in der Behandlung eines Fallbeispiels transgener Nutztiere (gentechnisch veränderte Fische mit fremden Wachstumshormon-Genen) zum gleichen Schluss:⁹⁷

3. Gene Pharming

Gene Pharming Tiere sind lebende Fermentatoren (Bioreaktoren). Das Gene Pharming hat zum Ziel, gentechnisch veränderte Nutztiere wie z.B. Kühe, Ziegen, Kaninchen oder Schweine, zur Produktion von Medikamenten für den Menschen zu benutzen. Dazu werden mittels Gentechnik Gene des Menschen in Embryonen von Nutztieren eingebracht, wodurch transgene Nutztiere hervorgehen, welche hochwertige menschliche Eiweisse in der Milch, im Urin oder im Blut ausscheiden.⁹⁸ Im Vordergrund steht die Produktion von medizinischen Wirkstoffen in der Milchdrüse der Tiere. Die Pharmaka werden aus den Körperflüssigkeiten der Tiere extrahiert und gereinigt, um sie dann in der Humanmedizin zur Anwendung zu bringen. Es besteht auch die Absicht, Produkte aus dem Gene Pharming in Lebensmitteln einzusetzen (Baby-, Diät-, Kliniknahrung).

3.1 Aktueller Stand und Entwicklungstrends

Für ein ökonomisch interessantes Gene Pharming werden namentlich zwei Strategien ins Auge gefasst:

- die Produktion hochwertiger Wirkstoffe, die in der Humanmedizin in ganz spezifischen Fällen eingesetzt werden, und deshalb nur in kleinen Mengen verfügbar sein müssen (beispielsweise Blutgerinnungsfaktoren für Bluterkrankheiten).
- Wirkstoffe, die zwar niedrige Preise erzielen, dafür aber in grossen Mengen benötigt werden (beispielsweise humanes Serumalbumin für Bluttransfusionen).

Erste Zielprodukte für die Entwicklung des Gene Pharmings sind unter anderem α -1-Antitrypsin, Gewebe-Plasminogen-Aktivator (tPA), Laktoferrin, Erythropoietin oder das Protein C. Nutztiere sollen Medikamente gegen Diabetes, Arthritis, Hämophilie, Emphyseme oder Magen-Darm-Infektionen produzieren. Die Listen von Forschungsarbeiten, die kommerzielle Anwendungen des Gene Pharmings ermöglichen sollen, sind bereits gross.⁹⁹⁻¹⁰³ Schon im

⁹⁷ Ethik-Studienkommission (1995). Bericht der Ethik-Studienkommission des Eidgenössischen Volkswirtschaftsdepartements zur Gentechnologie im ausserhumanen Bereich, 1995.

⁹⁸ Andere Produktionseinheiten sind z.B. Eier von transgenen Vögeln (Coghlan, A. (1999). Big breakfast. Crack open an egg and cure a disease. *New Scientist*, 13.11.99, S. 25; Houdebine, L. M. (1995). The production of pharmaceutical proteins from the milk of transgenic animals. *Reprod. Nutr. Dev.*, Vol. 35, S. 615) oder Spermien verschiedener Tiere.

⁹⁹ siehe dazu: Hankeln, T. & Schmidt, E. R. (1997). Transgene Tiere in Forschung, Medizin und Landwirtschaft. In: Brandt, P. (Hrsg.). *Zukunft der Gentechnik*. Birkhäuser Verlag, 1997, S. 93.

¹⁰⁰ Wilmut, I. & Whitelaw, C. B. A. (1994). Strategies for production of pharmaceutical proteins in milk. *Reprod. Fertil. Dev.*, Vol. 6, S. 625.

¹⁰¹ Selig, M. (1999). Gene Pharming: Billige und sichere Medikamente? *GID*, Nr. 132, April/Mai 1999, S. 12.

¹⁰² Hennighausen, L. (1997). Transgenic factor VIII: The milky way and beyond. *Nature Biotechnology*, Vol. 15, Oktober 1997, S. 945.

Jahre 1995 wurde geschätzt, dass im Labormassstab über 50 verschiedene rekombinante Proteine mittels Gene Pharming zugänglich sind.¹⁰⁴

Tiere	Produkt	Institution	Bemerkungen
Kaninchen ¹⁰⁵	Menschliches Gen zur Produktion von α -Glucosidase; Menschen mit der seltenen Pompe-Krankheit fehlt das Gen	Pharming (Leiden, NL)	Die klinische Phase II des rekombinanten Produktes wurde Ende 1998 abgeschlossen. Phase II/III soll noch im Frühjahr 1999 beginnen.
Stier „Herman“ ¹⁰⁶	Menschliches Gen zur Produktion von α -Laktoferrin	Gene Pharming (Leiden, NL)	
Kuh „Rosie“ ¹⁰⁷	Menschliches Gen zur Bildung von α -Laktoferrin	PPL Therapeutics (Blacksburg, USA)	Rosie wurde 1997 geboren; 2.4g/l Milch
Rinder	Menschliches Gen für ein die Blutbildung anregendes Eiweiss	Gene Pharming Europe (Finnland)	Forschungsprojekt
Schaf „Tracy“ ¹⁰⁸	Menschliches Gen zur Produktion von α -1-Antitrypsin	Pharmaceutical Proteins Ltd., PPL (GB)	Tracy wurde 1990 geboren
Schafe	Menschliches Gen zur Produktion des Blutgerinnungsfaktors VIII	Roslin Institute (GB)	Forschungsprojekt
Schafe	Menschliches Gen zur Produktion des Blutgerinnungsfaktors VIII	Institut für Tierzucht und Tiervershalten Bundesanstalt für Landwirtschaft, Mariensee, H. Niemann	Forschungsprojekt
Schweine	Menschliches Gen zur Produktion des Blutgerinnungsfaktors VIII	Holland Laboratory Rockville (USA), Virginia Polytechnic and State Univ. Blacksburg, George Washington Univ.	Transgene Schweine wurden 1997 geboren
Schwein „Genie“ ¹⁰⁹	Menschliches Gen zur Produktion des Proteins C		Sieben Ferkel von „Genie“ geboren
Schweine ¹¹⁰	Menschliches Hämoglobin	DNX Biotherapeutics	Forschungsprojekt
Ziegen ¹¹¹	Menschliches Gen für Antithrombin III	Genzyme Transgenics Corporation (USA)	Forschungsprojekt

Tabelle 6: Beispiele transgener Säugetiere für das Gene Pharming.

¹⁰³ Wall, R. J., Kerr, D. E. & Bondioli, K. R. (1997). Transgenic dairy cattle: genetic engineering on a large scale. J Dairy Sci, Vol. 80, S. 2213.

¹⁰⁴ Houdebine, L. M. (1995). The production of pharmaceutical proteins from the milk of transgenic animals. Reprod. Nutr. Dev., Vol. 35, S. 609.

¹⁰⁵ Nature Biotechnology (1998). Phase II for pharming. Nature Biotechnology, Vol. 16, Dezember 1998, S. 1297.

¹⁰⁶ Krimpenfort et al. (1991). Generation of transgenic dairy cattle using in vitro embryo production. Bio/Technology, Vol. 9, September 1991, S. 844.

¹⁰⁷ Nature Biotechnology (1997). Got milk? Not like PPL's new variety. Nature Biotechnology, Vol. 15, März 1997, S. 204.

¹⁰⁸ Koch, E. (1994). Das Millionenschaf. Das Magazin, Nr. 2, 15.1.94, S. 26; Idel, A. (1992). Teure Tracy. GID, Nr. 78, Juni 1992, S. 25.

¹⁰⁹ Drohan, W. N., Lubon, H. & Velandar, W. H. (1997). Menschliche Proteine aus der Milch transgener Tiere. Spektrum der Wissenschaft, März 1997, S. 0.

¹¹⁰ Sharma et al. (1994). An isologous porcine promoter permits high level expression of human hemoglobin in transgenic swine. Bio/Technology, Vol. 12, Januar 1994, S. 55.

¹¹¹ Baguisi et al. (1999). Production of goats by somatic cell nuclear transfer. Nature Biotechnology, Vol. 17, Mai 1999, S. 456.

Für die Pharmaindustrie steht aber das Gene Pharming noch immer in der Entwicklungsphase. Nur wenige Wirkstoffe, die mittels des Gene Pharmings gewonnen wurden, sind zurzeit in klinischen Prüfphasen. Es sind dies rekombinantes humanes Antithrombin III und rekombinantes humanes α -1-Antitrypsin.¹¹² Es gibt zur Zeit noch keine zugelassenen Marktprodukte. Tabelle 6 gibt Beispiele zu einigen Entwicklungsarbeiten zum Gene Pharming.

3.2 Wirtschaftliche Aspekte

Führende Firmen im Gene Pharming, wie PPL Therapeutics (England), Genzyme (USA) oder Gene Pharming Europe (Holland), haben enorme Investitionen getätigt. Die Produkte sind aber erst in der klinischen Testphase, wo massgebende Sicherheitsfragen der Produkte noch zu klären sind. Zusätzlich müssen ethische Fragen des Gene Pharmings gesellschaftspolitisch ausdiskutiert werden. Insofern ist die Zukunft des Gene Pharming noch ungewiss.

Sollten die Produkte billiger als Alternativprodukte sein, kleinere Infektionsrisiken ausweisen und Märkte, die mit anderen Methoden nicht zugänglich sind, mengenweise abdecken können, so wäre das Gene Pharming eine wirtschaftlich starke Option. Allerdings müssten dann noch immer ökonomische Vorteile gegen ethische Vorbehalte abgewogen werden.

Wirkstoffe, die mittels Gene Pharming produziert werden sollen, sind heute grösstenteils schon auf der Basis anderer Produktionsmethoden auf dem Markt verfügbar. Die Produkte werden entweder aus menschlichem Blut gewonnen oder aus genmanipulierten Mikroorganismen oder Zellkulturen produziert. Folglich wird ein wesentlicher Parameter, der über die Zukunft des Gene Pharming mitentscheidet, der sein, ob die Produkte mittels Gene Pharming im Vergleich zu diesen Methoden kostengünstiger anfallen.

Einige Marktanalysen kommen zum Schluss, dass das Gene Pharming deutlich wirtschaftlicher als alternative Herstellungsmethoden ausfallen kann: „State-of-the-art dairy facilities for a 100 kg product are roughly 1/10th the cost of a „tank farm“. Using mammary specific promoters that direct protein production into milk, transgenic dairy animals have been generated that produce 1-14 mg/ml of heterologous proteins - every day for a 305-day lactation cycle each year. This is 100-fold higher than the levels currently achieved using cell culture.“¹¹³

Die Produktion eines einzelnen transgenen Schweins kostet etwa 100 000\$, eines Schafs oder einer Ziege etwa 75 000\$ und einer Kuh etwa zwischen 500 000 und 1 Million \$.¹¹⁴ Diese Zahlen werden z.B. mit Reaktoranlagenkosten für Fermentationen aus Mikroorganismen oder Zellkulturen verglichen. Beispielsweise werden die Kosten eines 10 000 l Bioreaktors mit 80 - 100 000\$ aufgeführt.¹¹⁵ Bioreaktoren zur Produktion mässiger Mengen an Wirkstoff aus Zellkulturen kosten oft 40 Millionen Mark oder mehr.¹¹⁶ Eine Effizienzanalyse kommt zum Schluss, dass eine einzige Ziege mit einem Expressionslevel von 3 g/l an menschlichem Plasminogen Aktivator der Tagesleistung eines 1000 l Bioreaktors mit Mauszellen gleichkommt.¹¹⁷

¹¹² Ziomek, C. A. (1998). Commercialization of proteins produced in the mammary gland. *Theriogenology*, Vol. 49, S. 139.

¹¹³ Meade, H. & Ziomek, C. (1998). Urine as a substitute for milk? *Nature Biotechnology*, Vol. 16, Januar 1998, S. 22.

¹¹⁴ *Nature* (1999). California initiative to probe transgenics in large animals. *Nature*, Vol. 400, 26.8.99, S. 806.

¹¹⁵ Hodgson, J. (1992). Whole animals for wholesale protein production. *Bio/Technology*, Vol. 10, August 1992, S. 863.

¹¹⁶ Drohan, W. N., Lubon, H. & Velandar, W. H. (1997). Menschliche Proteine aus der Milch transgener Tiere. *Spektrum der Wissenschaft*, März 1997, S. 70.

¹¹⁷ Jänne et al. (1994). Transgenic bioreactors. *Int. J. Biochem.*, Vol. 26, No. 7, S. 859.

Die Preise für Produkte, die mittels Extraktion aus menschlichen Ressourcen oder rekombinant aus Bakterien gewonnen werden, schwanken sehr stark und überstrichen in der Startphase des Gene Pharmings anfangs der 90er Jahre Preisbereiche von 110\$ pro Gramm (α -1-Antitrypsin) bis 1.5 Millionen \$ pro Gramm für Erythropoetin.¹¹⁸ Es wird geschätzt, dass die ca. 12 Firmen, die im Gene Pharming Bereich auf den US-Markt drängen, einen Pharmamarkt aus transgenen Tieren in der Grössenordnung von 3 Milliarden Dollar schaffen könnten.¹¹⁹

Tatsächlich sind die wirtschaftlichen Gegebenheiten je nach Pharmaka sehr unterschiedlich (Tabelle 7, übernommen nach¹²⁰). So müssten zum Beispiel Schweineherden für den US-Albumin-Markt aus 800 000 Tieren bestehen, während für den US-Markt für Blutgerinnungsfaktor VIII ein einziges Schwein genügen würde.¹²¹ Eine der führenden Gene Pharming Firmen, Genzyme, schätzt wiederum, dass für den Weltbedarf an Antithrombin III (50 kg pro Jahr) eine Herde von 50 bis 100 transgenen, geklonten Ziegen ausreicht.¹²²

Protein	Marktgrösse (kg)	Marktwert (Millionen £)	Marktwert (£/Gramm)	Minimal erforderliche Expression in Milch (g/l)	Anzahl erforderlicher Schafe für 10% Markt-abdeckung
α -1-Antitrypsin	7500	500	66	2.0	5000
Gewebe-Plasminogen-Aktivator	75	500	6666	0.1	1000
Faktor IX	2	40	20 000	0.01	300
Erythropoetin	0.2	200	1 000 000	0.001	300
Faktor VIII	0.075	250	3 330 000	0.0001	1000

Tabelle 7: Benötigte Expressionsmengen für die kommerzielle Produktion von Pharmaka aus der Milch von transgenen Schafen.

3.3 Problemfelder

Damit die Produktion menschlicher Proteine aus transgenen Tieren erfolgreich ausfällt, müssen folgende Bedingungen erfüllt sein:

- es bedarf effizienter Regulationselemente, um die Genexpression selektiv am gewünschten Ort (z.B. Milchdrüsen) ablaufen zu lassen
- die Expression des menschlichen Strukturgens muss stark sein
- die Genkonstrukte müssen in die Keimbahn eingeführt werden
- die post-translationalen Modifikationen der Eiweisse und ihre Sekretion müssen möglichst optimal sein.

¹¹⁸ Moffat, A. S. (1991). Transgenic animals may be down on the pharm. Science, Vol. 254, 4.10.91, S. 35.

¹¹⁹ Wall, R. J., Kerr, D. E. & Bondioli, K. R. (1997). Transgenic dairy cattle: genetic engineering on a large scale. J Dairy Sci, Vol. 80, S. 2213.

¹²⁰ James, R. (1992). Transgenic animals in the production of therapeutic proteins. Biotechnology International, 1992, S. 317.

¹²¹ Wall, R. J., Kerr, D. E. & Bondioli, K. R. (1997). Transgenic dairy cattle: genetic engineering on a large scale. J Dairy Sci, Vol. 80, S. 2213.

¹²² GID (1999). Mira, Mira, Mira. GID, Nr. 133, Juni/Juli 1999, S. 32.

Mit diesen Anforderungen sind unvermeidlich Fragen zum Umgang mit Tierembryonen, zur Auswirkung der Eingriffe auf die Tiergesundheit und zu den Produktrisiken von Gene Pharming Medikamenten verknüpft.

3.3.1 Gentransfer: Embryonenverschleiss

Zur Produktion transgener Tiere für das Gene Pharming stehen heute verschiedene Techniken zur Verfügung.¹²³ Es handelt sich vor allem um die DNA-Mikroinjektion, die Embryonale Stammzelltechnik (ES)¹²⁴, die Verwendung viraler Vektoren¹²⁵ und der Einsatz künstlicher Chromosomen.

Die am häufigsten eingesetzte Methode ist die Mikroinjektion von Fremd-DNA in den Vorkern einer befruchteten Eizelle. Der injizierte Embryo wird anschliessend in ein Leihmutter-Tier transferiert. Die mikroinjizierte DNA besteht aus einem *in vitro* hergestelltem Genkonstrukt, wobei bei dieser Technik die Grösse des Transgens meist auf etwa 20 000 Nukleotidbausteine beschränkt ist. In der Regel bewegt sich die Anzahl der integrierten Gene zwischen hundert oder einigen hundert, welche sich meistens an einer Stelle im Genom einbauen. Der Integrationsort wird aber zufällig bestimmt. Deshalb erstaunt es nicht, dass sich die Expression desselben Transgens in verschiedenen transgenen Tieren sehr unterschiedlich äussert. Die Tiere können sogar Mosaik-Tiere sein, nämlich dann, wenn der Geneinbau im Zweizell-Stadium oder noch später erfolgt. Schliesslich können die Transgene bei ihrer Integration sogenannte insertionale Mutationen hervorrufen, was gewöhnlich zum pränatalen Tod der Tiere führt.¹²⁶

Eine neuere Methode benutzt künstliche Hefe-Chromosomen (yeast artificial chromosomes, YAC) bzw. künstliche Säuger-Chromosomen (mammalian artificial chromosomes, MAC) als Vektoren.¹²⁷ Auf diese Weise können Genkonstrukte von mehreren 100 000 Basenpaaren transferiert werden, was bei langen eukaryontischen Genen wichtig sein kann, da die gesamte

¹²³ Hinweise zu verschiedenen Methoden geben: Postma et al. (1996). Transgenic dairy mammals. Bulletin on the IDF 315, Oktober 1996, S. 39; Mertens, C. (1996). Verbrauch und Bewilligungsverfahren von transgenen Tieren. Oekoskop, Nr. 3/96, S. 19.

¹²⁴ Diese Methode benützt embryonale Stammzellen (embryonic stem cells, ES). Das Verfahren wird auch gene targeting genannt und basiert auf homologer Rekombination, d.h. DNA-Sequenzen im Tiergenom werden durch künstliche DNA-Sequenzkonstrukte ausgetauscht. Dies gelingt dann, wenn das Genkonstrukt teilweise identisch mit der natürlichen DNA-Sequenz im Tiergenom ist. Nach dem Gentransfer können erfolgreich transformierte Stammzellen selektioniert werden, da im DNA-Konstrukt auch Selektionsmarker (z.B. Antibiotika-Resistenz) enthalten sind. Die Methode funktioniert heute allerdings nur bei Mäusen, wo es das Hauptziel ist, funktionelle DNA durch nicht kodierende DNA zu ersetzen und damit das entsprechende Gen auszuschalten (sogenannte knock-out-Mäuse). Embryonale Stammzellen sind heute aus Mausembryonen verfügbar, können *in vitro* vermehrt werden und behalten dabei ihre Fähigkeit, sich in die verschiedenen Zelltypen zu entwickeln. Bisher ist es nicht geglückt, diese Methode bei anderen Säugetieren erfolgreich anzuwenden (siehe: Postma et al. (1996). Transgenic dairy mammals. Bulletin on the IDF 315, Oktober 1996, S. 39).

¹²⁵ Virale Vektoren werden aus mehreren Gründen kritisch beurteilt. Bei der Verwendung defekter Retroviren besteht die latente Gefahr, dass durch zufällige Kombination mit zellulären DNA-Sequenzen wieder aktive Tumoviren entstehen könnten. Durch virale Rekombination können aus viralen Vektoren neue und pathogene Viren entstehen (siehe dazu: Idel, A. (1999). Bericht für die Enquete-Kommission Gentechnik des Schleswig-Holsteinischen Landtages, 1999).

¹²⁶ Postma et al. (1996). Transgenic dairy mammals. Bulletin on the IDF 315, Oktober 1996, S. 40.

¹²⁷ Ikeno et al.(1998). Construction of YAC-based mammalian artificial chromosomes. Nature Biotechnology, Vol. 16, Mai 1998, S. 431.

notwendige Gensequenz für eine optimale Expression des Transgens übertragen werden kann.^{128,129}

Die Ausbeute an transgenen Tieren durch die Mikroinjektionsmethode ist sehr schlecht. Die niedrige Ausbeute ist vor allem durch drei Faktoren bestimmt: die Überlebensfähigkeit des Embryos, die Rate der Gen-Integration und die stabile Ausprägung des Transgens. Bei Nutztieren ist insbesondere die Integrationsrate der Gene deutlich schlechter als bei z.B. Mäusen.

Versuche mit Schweinen zeigten, dass sich aus 2236 mit einem menschlichen Wachstumshormon-Gen versehenen Zygoten, die in 35 Empfängertiere verpflanzt wurden, lediglich 177 Ferkel entwickelten, von denen 2 das gewünschte Gen eingebaut hatten. Die Erfolgsrate betrug damit lediglich 1%.¹³⁰ Trotz grossen technischen Bemühungen hat sich in der Folge an den Erfolgsraten nicht viel geändert.

Tabelle 8 zeigt publizierte Erfolgsraten (lebensfähige Nachkommen mit aktivem Fremd-Gen) bei der Produktion von Tieren für das Gene Pharming.

Tier	Methode	Erfolgsrate
Kuh	Mikroinjektion	0.06% - 0.75
Schaf	Mikroinjektion	0.1 - 4.4%
Schwein	Mikroinjektion	0.3 - 4%
Ziege	Mikroinjektion	0.5 - 3%
Ziege	Kerntransfer	2.6%

Tabelle 8: Erfolgsraten bei der Produktion transgener Tiere für das Gene Pharming. Daten nach ¹³¹⁻¹³⁴

Instabilitäten bei der Vererbung der Transgene führen zu einer weiteren Reduktion der Ausbeute an transgenen Tieren. So können bei Tierarten für das Gene Pharming häufig Veränderungen der Genexpression und der Gensequenz auftreten, die bis zur Eliminierung der Transgene führen können.¹³⁵

Es wird auf verschiedene Weise versucht, die Ausbeuten zu erhöhen, so beispielsweise durch die chemische Form der injizierten DNA, die erhöhte Bereitstellung von Embryonen durch *in vitro* Verfahren, die längere Kultivierung der befruchteten Eizellen vor der Implantation in das

¹²⁸ Analog gibt es in der Gentherapie Ansätze für die Produktion von künstlichen Menschen-Chromosomen (human artificial chromosomes, HAC): Willard, H. F. (1998). Human artificial chromosomes coming into focus. Nature Biotechnology, Vol. 16, Mai 1998, S. 415.

¹²⁹ Brem et al.. (1996). YAC transgenesis in farm animals: rescue of albinism in rabbits. Molecular Reproduction and Development, Vol. 44, S. 56.

¹³⁰ Trachsel, B. (1995). Ausbeutung und Verschleiss von Leben. In: Koechlin, F. und Ammann, D. (Hrsg.), Morgen, Realotopia, 1995, S. 200.

¹³¹ Wall, R. J., Kerr, D. E. & Bondioli, K. R. (1997). Transgenic dairy cattle: genetic engineering on a large scale. J Dairy Sci, Vol. 80, S. 2213.

¹³² Baguisi et al. (1999). Production of goats by somatic cell nuclear transfer. Nature Biotechnology, Vol. 17, Mai 1999, S. 456

¹³³ Pinkert, C.A. & Murray, J.D. (1999). Transgenic farm animals. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), Transgenic animals in agriculture. CAB International, S. 6.

¹³⁴ Idel, A. (1999). Bericht für die Enquete-Kommission Gentechnik des Schleswig-Holsteinischen Landtages, 1999.

¹³⁵ Idel, A. (1999). Bericht für die Enquete-Kommission Gentechnik des Schleswig-Holsteinischen Landtages, 1999.

Leihmuttertier oder durch eine verbesserte Identifikation der positiven Integration der Fremd-DNA.¹³⁶

3.3.2 Positionseffekte: Unerwünschte Nebenwirkungen auf Tiere

Bei der Anwendung der Mikroinjektionsmethode lässt sich die Integration der Fremdgene nicht steuern. Es kommen Fehler vor, sowohl hinsichtlich der Lokalisation als auch der Anzahl des Fremdgens im Empfängerorganismus. Die tatsächliche Wirkung des eingebauten Fremdgens wird dann nicht nur durch seine "eigentliche" Funktion bestimmt, sondern auch durch den räumlichen Kontext im Empfängerorganismus (sog. Positionseffekte). Das eingeführte Gen kann also zu Phänomenen führen, die durch die simple Addition der Einzelelemente (Spender-Gen, Vektor, Empfängerorganismus) nicht zu erklären sind: Die Nachbarschaft des neu eingebauten Gens bestimmt auch das Gefahrenpotential entscheidend mit. Tatsächlich gibt es zahlreiche Hinweise¹³⁷, dass die Risikoeinschätzung in einem erweiterten, kontextbezogenen Modell erfolgen muss.¹³⁸ Beispielsweise wurde gefunden, dass der Einbau eines Marker-Gens in ein Mausgenom unerwartete räumlich-zeitliche Expressionsmuster in den transgenen Mäusen ergab¹³⁹, dass bei Chromosomen-Translokationen ein Krebsgen seine Funktion in unterschiedlichem Regulationszusammenhang veränderte¹⁴⁰ oder dass der Einbau eines Plasmids in Bakteriengenome unerwartete Effekte wie z.B. Virulenzsteigerung zeitigte.¹⁴¹ Solche Effekte sind grundsätzlich auch bei transgenen Nutztieren für das Gene Pharming zu erwarten.

Man erhofft sich, mit der YAC Methode die Probleme der Positionseffekte überwinden zu können. Je grösser das zu transferierende Genkonstrukt ausfallen kann, desto grösser ist die Möglichkeit, dass alle mitbestimmenden Regulationselemente im Konstrukt enthalten sind.¹⁴²

3.3.3 Genexpression: Belastung der Tiere

Die Expression von fremden Eiweissen kann zu Gesundheitsproblemen für die transgenen Tiere Anlass geben. Die Frage, ob Tiere, die artfremde Eiweisse in hohen Mengen produzieren müssen, auf die Dauer gesund sind und nicht leiden, ist unbeantwortet.

Transgene Tiere für das Gene Pharming scheiden biologisch aktive Verbindungen aus. Die menschlichen Eiweisse entfalten auch Aktivität in verschiedenen Säugetieren. Es ist bekannt, dass die zeitlich unbeschränkte Sekretion der Eiweisse, negative Effekte auf die Tiere hat.¹⁴³

¹³⁶ Houdebine, L. M. (1995). The production of pharmaceutical proteins from the milk of transgenic animals. *Reprod. Nutr. Dev.*, Vol. 35, S. 610.

¹³⁷ Siehe dazu auch: Franck-Oberaspach, S. L. & Keller, B. (1996). Produktesicherheit von krankheits- und schädlingresistenten Nutzpflanzen: Toxikologie, allergenes Potential, Sekundäreffekte und Markergene. In: Schulte, E. und Käppeli, O. (Hrsg.). *Gentechnisch veränderte krankheits- und schädlingresistente Nutzpflanzen. Schwerpunktsprogramm Biotechnologie des Schweizerischen Nationalfonds, Band I, Materialien*, S. 60.

¹³⁸ Kollok, R. (1989). Neue Kriterien für die Abschätzung des Risikos. In: Thurau, M. (Hrsg.). *Wer kontrolliert die Industrie?* Fischer.

¹³⁹ Bonnerot et al. (1990). Patterns of expression of position-dependent integrated transgenes in mouse embryo. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 87, S. 6331.

¹⁴⁰ Croce, C. M. & Klein, G. (1985). Chromosomen-Translokationen und Krebs. *Spektrum der Wissenschaft*, Mai 1985.

¹⁴¹ Kozyrovskaya et al. (1984). Changes in properties of phytopathogenic bacteria affected by plasmid pRD1. *Arch. Microbiol.*, Vol. 137, S. 338.

¹⁴² Brem et al. (1996). YAC transgenesis in farm animals: rescue of albinism in rabbits. *Molecular Reproduction and Development*, Vol. 44, S. 56.

¹⁴³ Houdebine, L. M. (1995). The production of pharmaceutical proteins from the milk of transgenic animals. *Reprod. Nutr. Dev.*, Vol. 35, S. 613.

Es wird vermutet, dass die rekombinanten Eiweiße aus den Milchdrüsen in das Blut der Tiere migrieren können, was Gesundheitsschädigungen der Tiere auslösen kann.¹⁴⁴

Die Wahl der Tierart für das Gene Pharming richtet sich nach dem Bedarf der benötigten Menge an Proteinprodukt.¹⁴⁵ Für sehr grosse Produktionsmengen erscheinen transgene Kühe optimal. Eine Kuh kann mehr als 10 000 l Milch pro Jahr geben und damit bei optimaler Expression des Transgens einige 100 kg Fremd-Protein pro Jahr liefern.¹⁴⁶ Es werden beispielsweise folgende Szenarien diskutiert: Eine durchschnittliche Kuh produziert 300 kg Milcheiweiße pro Jahr. Gelingt es, ein humanes Protein zu 10% dieser Gesamtmenge zu exprimieren und im Umfang von 2/3 der Ausscheidung zu isolieren, so kann eine einzige Kuh ca. 20 kg humanes Protein pro Jahr abwerfen.¹⁴⁷

Der Einsatz von Kühen ist aber aus mehreren Gründen erschwert:¹⁴⁸

- Die Gewinnung von Zygoten ist sehr aufwendig und teuer
- Kühe werfen nur 1 Jungtier. Die Trächtigkeitsraten sind bei DNA-injizierten Tieren zudem kleiner
- Die Integrationsrate der Fremdgene ist bei Kühen im Vergleich zu anderen, für das Gene Pharming geeigneten Tieren, gering
- Die relativ lange Generationszeit bei Kühen von ca. 2 Jahren macht die Entwicklung zeitintensiv und erhöht die Produktionskosten.

Für einen Jahresbedarf über 1 kg Protein werden vor allem Schafe, Ziegen und Schweine ins Auge gefasst. Falls weniger als 1 kg des rekombinanten Proteins pro Jahr benötigt werden, ist der Einsatz von Kaninchen attraktiv. Transgene Mäuse können nur sehr beschränkte Mengen Milch liefern und kommen folglich für industrielle Produktionen kaum in Frage.

Massgebend für den Erfolg des Gene Pharmings ist die Wahl der regulatorischen Gensequenzen im Genkonstrukt. Damit ein humanes Gen in der Milch von Tieren ausgeschieden wird, muss eine Regulationssequenz eines tierischen Milchproteins mit dem Strukturgen verschmolzen werden. Die Promotoren der Milchproteine bestimmen den Ort der Eiweißproduktion und die Ausbeute an Fremdeiweiß in der Produktionsflüssigkeit (analog wäre das Vorgehen für eine Sekretion in Blut oder Urin). Ein effizienter Promotor ist beispielsweise der Schaf- β -Laktoglobulinpromotor. Transgene Schafe mit Fremdgenen unter Kontrolle dieses Promotors scheiden bis zu 60g menschliches Eiweiß pro Liter Schafsmilch aus. Die Ausbeuten fallen aber sehr unterschiedlich aus (Tabelle 9; für detailliertere Listen von Proteinausbeuten siehe z.B.¹⁴⁹).

¹⁴⁴ Songer, J. G. (1996). Recombinant proteins from milk of transgenic animals. Targeting genes to the mammary gland and regulating production. ISB News Report, Juli 1996, S. 8.

¹⁴⁵ Houdebine, L. M. (1995). The production of pharmaceutical proteins from the milk of transgenic animals. *Reprod. Nutr. Dev.*, Vol. 35, S. 613.

¹⁴⁶ Hankeln, T. & Schmidt, E. R. (1997). Transgene Tiere in Forschung, Medizin und Landwirtschaft. In: Brandt, P. (Hrsg.). *Zukunft der Gentechnik*. Birkhäuser Verlag, 1997, S. 110.

¹⁴⁷ Hodgson, J. (1992). Whole animals for wholesale protein production. *Bio/Technology*, Vol. 10, August 1992, S. 863.

¹⁴⁸ Eyestone, W. H. (1999). Production of transgenic cattle expressing a recombinant protein in milk. In: Murray, J. D., Anderson, G. B., Oberbauer, A. M. & McGloughlin, M. M., *Transgenic Animals in Agriculture*. CAB International, 1999, S. 177.

¹⁴⁹ Maga, E. M. & Murray, J. D. (1995). Mammary gland expression of transgenes and the potential for altering the properties of milk. *Bio/Technology*, Vol. 13, Dezember 1995, S. 1452.

Tierart	Humanes Protein	Ausbeute	Bemerkungen
Huhn ¹⁵⁰	Interferon	100 mg/Ei	Ein Huhn legt ca. 200 Eier pro Jahr
Kaninchen ¹⁵¹	Interleukin 2	50-430 ng/ml (Milch)	Bei einer Milchleistung von 200 - 300 ml pro Tag entspricht die Ausbeute an Interleukin 2 einem Wert von sFr. 150 000.- pro Tag (Marktpreis 1996)
Kuh ¹⁵²	α -Lactalbumin	2.4 g/l (Milch)	Muttermilch des Menschen enthält 2.5 - 2.7 g/l α -Lactalbumin
Schaf ¹⁵³	α -1-Antitrypsin (AAT)	63 g/l (Milch); 35 g/l (Milch) ¹⁵⁴	Es wird spekuliert, dass ein Schaf AAT im Wert von 100 000\$ pro Jahr produzieren kann ¹⁵⁵
Schwein ¹⁵⁶	Protein C	0.001 - 1 g/l (Milch)	
Ziege ¹⁵⁷	Gewebe Plasminogen Aktivator (t-PA)	3 mg/ml (Milch)	
Ziege ¹⁵⁸	Antithrombin III	14 g/l (Milch)	Klinische Prüfphase III

Tabelle 9: Ausbeute an humanen Proteinen aus transgenen Tieren.

3.3.4 Produktkontamination: Medikamentenrisiko

Ein nicht zu unterschätzender Problemfaktor ist der Reinigungsprozess der aus der Milch von transgenen Tieren gewonnen menschlichen Eiweisse. Geringe Kontaminationen der menschlichen Wirkstoffe mit tierischen Milchproteinen können zu Allergien oder Immunreaktionen bei den Konsumenten der Medikamente führen. Die Produkte können auch mit Pathogenen aus den Tieren verunreinigt sein. Die Reinigungsprozesse für die rekombinanten Wirkstoffe aus der Milch sind sehr aufwendig und erfolgen meist mit kleinen Ausbeuten.¹⁵⁹ Beispielsweise bieten physikalisch-chemische Eigenschaften der Milch, wie die Micellenbildung zwischen Eiweissen und Fetten, Probleme bei der Reinigung. Da aber die Expressionsmengen sehr gross sein können, können die grossen Verluste bei der Reinigung in Kauf genommen werden.

Das Problem der Kontamination der gewonnenen Wirkstoffe mit humanpathogenen Erregern ist nicht gelöst. Prionen wurden bisher in den Milchdrüsen – Iselbst bei Tieren, die an BSE

¹⁵⁰ Coghlan, A. (1999). Big breakfast. Crack open an egg and cure a disease. *New Scientist*, 13.11.99, S. 25.

¹⁵¹ Went, D. F. (1996). Molecular pharming. *Bio World* 3/96, S. 3.

¹⁵² Nature Biotechnology (1999). Got milk? Not like PPL's new variety. *Nature Biotechnology*, Vol. 15, März 1997, S. 204.

¹⁵³ Wilmut, I. & Whitelaw, C. B. A. (1994). Strategies for production of pharmaceutical proteins in milk. *Reprod. Fertil. Dev.*, Vol. 6, S. 625.

¹⁵⁴ Maga, E. M. & Murray, J. D. (1995). Mammary gland expression of transgenes and the potential for altering the properties of milk. *Bio/Technology*, Vol. 13, Dezember 1995, S. 1452.

¹⁵⁵ Amato, I. (1993). A biotech bonanza on the hoof? *Science*, Vol. 259, 19.3.93, S. 1698.

¹⁵⁶ Maga, E. M. & Murray, J. D. (1995). Mammary gland expression of transgenes and the potential for altering the properties of milk. *Bio/Technology*, Vol. 13, Dezember 1995, S. 1452.

¹⁵⁷ Maga, E. M. & Murray, J. D. (1995). Mammary gland expression of transgenes and the potential for altering the properties of milk. *Bio/Technology*, Vol. 13, Dezember 1995, S. 1452.

¹⁵⁸ Ziomek, C. A. (1998). Commercialization of proteins produced in the mammary gland. *Theriogenology*, Vol. 49, S. 139.

¹⁵⁹ Jänne et al. (1994). Transgenic bioreactors. *Int. J. Biochem.*, Vol. 26, No. 7, S. 859.

erkrankt waren – allerdings nicht gefunden. Die Problematik kann weiter minimiert werden, indem Tiere verwendet werden, die wenig anfällig auf Prionenerreger sind. So sind beispielsweise Ziegen vorteilhafter (7 Scrapie-Fälle gemeldet bei der amerikanischen Landwirtschaftsbehörde im Jahre 1998) als Schafe (1117 gemeldete Fälle, 1992).¹⁶⁰ Andere Pathogene, die in der Milch auftreten können, glaubt man durch kontrollierte Zuchtpraktiken ausschliessen zu können.

Die rekombinanten Proteine, die in der Milch der transgenen Tiere ausgeschieden werden, fallen nicht immer in der biochemisch richtigen Form an. Es steht in vielen Fällen noch der Beleg aus, ob die gentechnisch gewonnenen Produkte in Struktur und Funktion mit den natürlichen Produkten identisch sind. Bindungsspaltungen und Glykosylierung verlaufen in Gene Pharming Tieren nicht immer korrekt. Die Milchdrüsen der verschiedenen Produktionstiere haben nicht dieselbe Ausrüstung an Enzymen für die Produktion des Proteinprodukts. Rekombinante Eiweisse aus dem Gene Pharming können folglich aus Gründen struktureller Abweichungen gegenüber dem nativen Eiweiss Nebeneffekte auslösen. Produkte des Gene Pharming müssen diesbezüglich von Fall zu Fall untersucht werden.

So werden beispielsweise Wirkstoffe wie die Blutgerinnungsfaktoren VII, VIII und IX oder das Protein C im Menschen unter Kontrolle einer Vitamin K-abhängigen Carboxylase modifiziert, indem ausgewählte Glutaminsäurereste zu γ -Carboxyglutaminsäuren umgewandelt werden. In der Milchdrüse von Schweinen läuft aber diese Reaktion unvollständig ab, was zu Strategien führt, die Milchdrüsen der Schweine vorerst zu optimieren oder die Produkte des Gene Pharmings aus anderen tierischen Zellen (z.B. Epithelzellen) zu gewinnen.¹⁶¹

3.4 Alternativen

Protagonisten des Gene Pharming betrachten diese Technik als eine effizientere Alternative zur klassischen Bioreaktortechnik, bei der in Fermenteranlagen Medikamente aus gentechnisch veränderten Bakterien oder Zellen gewonnen werden. Vorteile des Gene Pharmings werden damit begründet, dass Bakterien als Produktionsmittel für gewisse menschliche Proteine nicht ideal sind, da sie spezielle Stoffwechselschritte bei der Übersetzung vom Gen zum Protein - den sogenannten posttranslationalen Modifikationen an den Genprodukten - nicht ausführen können. Säugerzellkulturen als Produktionsmittel sind wiederum heikle, komplexe und teure Verfahren, die zudem nur beschränkte Ausbeuten an den menschlichen Wirkstoffen zulassen. Schliesslich könnten einige körpereigene Wirkstoffe des Menschen (z.B. Hormone, Cytokine) direkt aus dem menschlichen Blut gewonnen werden. Die Eiweisse liegen aber in derart kleinen Konzentrationen vor, dass es sehr grosser Mengen an menschlichem Blut bedürfte, um pharmakologisch nützliche Mengen dieser Eiweisse zu erhalten.

3.4.1 Mikroorganismen

Der Beginn der Pharmaproduktion mittels Gentechnik war praktisch ausschliesslich auf die Gewinnung der Wirkstoffe aus mikrobiellen Produktionsstämmen oder Zellkulturen ausgerichtet. In der Schweiz waren 1998 aus solcher Produktion 37 Gentech-Medikamente registriert.¹⁶² In den USA sind zurzeit etwa 350 rekombinante Wirkstoffe in Entwicklung.¹⁶³

¹⁶⁰ Baguisi et al. (1999). Production of goats by somatic cell nuclear transfer. *Nature Biotechnology*, Vol. 17, Mai 1999, S. 456.

¹⁶¹ Hennighausen, L. (1997). Transgenic factor VIII: The milky way and beyond. *Nature Biotechnology*, Vol. 15, Oktober 1997, S. 945.

¹⁶² Pfister, Th. (1999). Skepsis bei der Ernährung - Zustimmung in der Medizin. *Schweizerische Handelszeitung*, 27.1.99.

Mit dem Bedarf, immer komplexere Eiweisse produzieren zu müssen, wurde als Alternative zur bakteriellen Fermentation die Gewinnung aus genmanipulierten Säugerzellkulturen gegriffen. Die Kosten der Produktion rekombinanter Proteine aus Zellkulturen sind aber sehr hoch. Damit eröffnete sich das Dilemma, entweder nicht korrekt exprimierte Produkte aus Bakterien in Kauf zu nehmen oder die ausserordentlich teure Zellkulturtechnik einzusetzen.¹⁶⁴ Den Ausweg sieht man heute primär im Gene Pharming mit transgenen Tieren, aber auch die Strategie von transgenen Pflanzen als Eiweiss-Fabriken gewinnt an Bedeutung.

3.4.2 Pflanzen

Auch transgene Pflanzen können eine Produktionsquelle für rekombinante Proteine darstellen. Als Produktionsvorteil gegenüber der Gewinnung aus genmanipulierter Hefe oder Bakterien wurden höhere Ausbeuten, geringere Kontaminationen und einfachere Aufarbeitung des Produkts genannt.

Unter den ersten Versuchen war die Expression von menschlichem Hämoglobin in transgenem Tabak.¹⁶⁵ Ein weiterer Fokus liegt in einer neuen Strategie für die Therapie von Diabetes I. Dazu sollen transgene Pflanzen gentechnisch entwickelt werden, welche ein Protein produzieren, das die Rolle des Insulins übernehmen kann. Fütterungsversuche an Mäusen ergaben bereits hoffnungsvolle Ergebnisse. Allerdings ist der Stand der Tierversuche noch weit davon entfernt, klinische Versuche am Menschen verantworten zu können.¹⁶⁶ Nachdem es gelungen ist, in Mäusen das Wachstum des non-Hodgkin-Lymphoma durch eine therapeutische Vakzine aus Tabak zu stoppen, besteht die Hoffnung, selbst gegen Krebsformen Wirkstoffe aus gentechnisch veränderten Pflanzen gewinnen zu können.¹⁶⁷

Insbesondere intensiv werden transgene Pflanzen für die Impfstoffproduktion ins Auge gefasst (Projekte für Cholera, Tollwut, Autoimmunkrankheiten, Diabetes etc.). Der grosse Vorteil liegt darin, dass der Pflanze gentechnisch Untereinheits-Vakzine eingebaut werden können, so dass das infektiöse Agens im Impfstoff nicht präsent ist.¹⁶⁸ Zudem braucht es laut WHO und UNICEF für eine Erhöhung der Anzahl der Impfmöglichkeiten und deren globalen Verbreitung neuer Strategien. Als eine vielversprechende Strategie gelten essbare Pflanzen mit Impfwirkung.¹⁶⁹ Die Produktion von Impfstoffen in transgenen Pflanzen würden verschiedene Probleme der traditionellen Impfstoffherstellung - so auch die Gewinnung von Impfstoffen mittels Gene Pharming - lösen. Beispielsweise könnte die Temperaturempfindlichkeit isolierter

¹⁶³ DiPaolo et al. (1999). Monitoring impurities in biopharmaceuticals produced by recombinant technology. PSST, Vol. 2, No. 2, Februar 1999, S. 70.

¹⁶⁴ Meade, H. & Ziomek, C. (1998). Urine as a substitute for milk? Nature Biotechnology, Vol. 16, Januar 1998, S. 21.

¹⁶⁵ Nature Biotechnology (1997). Human hemoglobin from transgenic plants. Nature Biotechnology, Vol. 15, April 97, S. 304.

¹⁶⁶ Prakash, C. S. (1998). Engineered plants show promise as edible vaccine for diabetes. ISB News Report, März 1998, S. 4.

¹⁶⁷ Gegen Lymphoma, wo sich die B Zelltumore äusserst variabel ausprägen können, strebt man eine sogenannte „personalized medicine“ an. Ausgenutzt werden soll, dass jeder der verschiedenen Tumore spezifische Zelloberflächenmoleküle (Immunoglobine) ausbildet. Die individuellen Antikörper müssen aber rasch und in hinreichenden Mengen bereitgestellt werden können. Hier scheinen sich Pflanzen als Produktionssysteme anzubieten (Prakash, C. S. (1999). A plant-based vaccine against cancer. ISB News Report, März 1999, S. 6.

¹⁶⁸ Ein Beispiel dafür sind schon früh angelegte Versuche, rekombinante Hepatitis B Oberflächenantigene in Tabak einzubauen (Arntzen, C. J. (1999). High-tech herbal medicine: Plant-based vaccines. Nature Biotechnology, Vol. 15, März 1997, S. 222).

¹⁶⁹ Arntzen, C. J. (1999). High-tech herbal medicine: Plant-based vaccines. Nature Biotechnology, Vol. 15, März 1997, S. 221.

Impfstoffe umgangen werden und die beschwerliche Applikation mit Spritzen wäre vereinfacht. Beim Einsatz von Pflanzen wäre zudem das Problem der Übertragung tierischer Pathogene durch Kontamination der Impfstoffe eliminiert. Der grosse Vorteil transgener Pflanzen zur Impfung liegt darin, dass die gentechnisch veränderte Pflanze das Produktions- und das Applikationssystem zugleich darstellt. Man erhofft sich auch höhere Ausbeuten und ökonomische Gewinne durch einfacheres *scale-up* der Produktion. Zurzeit werden bereits Tiere, die einem Erreger ausgesetzt sind, über die immunologischen Reaktionen nach einer Impfung mit gentechnisch veränderten Pflanzen getestet. Man hofft auf einen baldigen Beginn mit präklinischen Tests von Impfpflanzen am Menschen.¹⁷⁰

Gewisse aus gentechnisch veränderten Pflanzen gewonnenen Pharmaka sind bereits in klinischer Prüfung. Beispiele sind essbare Impfstoffe in Form von transgenen Kartoffeln gegen *E. coli*-induzierten Durchfall oder aus transgenen Tabakpflanzen gewonnene monoklonale Antikörper gegen *Streptococcus mutans* zwecks einer präventiven Therapie von Karies.¹⁷¹

Bereits sollen in Kanada zum ersten Mal genmanipulierte Pflanzen mit menschlichen therapeutischen Genen in die Umwelt freigesetzt werden. Es handelt sich um Tabakpflanzen mit dem Gen für humanes Interleukin-10. Der Direktor des London Health Sciences Centre wertet diesen Schritt als historisch und als Durchbruch zu Niedrigpreis-Gentechnik-Medikamenten.¹⁷²

Als Hauptprobleme bei der Pharmaka-Gewinnung aus gentechnisch veränderten Pflanzen werden die Kontamination der Wirkstoffe mit Allergenen und die ökologischen Risiken beim Anbau dieser Pflanzen in der Umwelt benannt.¹⁷³

3.5 Ethische Bewertung

In der öffentlichen Wahrnehmung wird das Gene Pharming oft mit einer Instrumentalisierung von Tieren in Verbindung gebracht. Die Eingriffskette des Gene Pharmings – hormonelle Zygotenproduktion, Ovariengewinnung in Schlachthäusern, In-vitro-Fertilisation, *in vitro* Reifung der Oocyten, DNA Mikroinjektion, Embryokultur, Embryotransfer, Diagnose und Monitoring der Schwangerschaft – wird mehrheitlich intuitiv als unmoralisch verworfen. Die Tatsache des grossen Embryonenverschleisses und der grossen Rate an pränatalen Fehlschlägen steigert die Ablehnung gegenüber dem Gene Pharming.

Nichtsdestotrotz will die professionelle Ethik – vorerst unabhängig vom Laienurteil – die Legitimität des Gene Pharmings erörtern. Dazu muss folgende Frage beantwortet werden: Wie weitgehend kann die Würde eines Tieres verletzt werden, um Wirkstoffe zu gewinnen, die für die Therapie schwerer Erkrankungen des Menschen nützlich sind? Es bedarf also überzeugender Gründe, um die Verletzung der tierischen Integrität durch den gentechnischen Eingriff für das Gene Pharming ethisch vertretbar zu machen. Die blosse Behauptung, der Mensch sei höherwertig und das Opfer beim Tier folglich gerechtfertigt, ist dabei kein hinreichendes ethisches Argument. Die extreme Behauptung, den Tieren würde durch das Gene Pharming sogar ein Würdegewinn zugewiesen, hält nicht Stand und lässt sich nur im Lichte einer rigorosen Anthropozentrik formulieren.¹⁷⁴

¹⁷⁰ Wong, E. A. (1997). Edible plant vaccines. ISB News Report, Januar 1997, S. 7.

¹⁷¹ Palmer, K. E. (1998). Human clinical trials show effectiveness of transgenic plant-derived pharmaceuticals. ISB News Report, Juni 1998, S. 6.

¹⁷² Miner, J. (1999). Plants with human genes about to be field-tested. The London Free Press, 14.6.99.

¹⁷³ Gura, T. (1999). New ways to glean medicines from plants. Science, Vol. 285, 27.8.99, S. 1347.

¹⁷⁴ It may be the best at this stage simply to quote from George Orwell's *Animal Farm*. In the novel, it was the pigs who established "all animals are equal" as a central tenet of the animal-run egalitarian

Tieren, die für das Gene Pharming verwendet werden, kommt fraglos eine Würde zu. Diese Würde steht im Zusammenhang mit der Selbstzwecklichkeit des Tieres und dem Anrecht, im artspezifischen Verhalten nicht eingeschränkt zu werden und keine Zwänge für menschengesetzte Zwecke erfüllen zu müssen. Eine Güterabwägung hat sich somit primär von der Würdezuordnung leiten zu lassen und muss die Notwendigkeit, den Nutzen, das Fehlen von Alternativen sowie die möglichen Risiken des Gene Pharmings umfassend abklären.

Die Rechtfertigungsansprüche für gentechnische Eingriffe im Rahmen des Gene Pharmings sind schon deshalb sehr streng anzusetzen, da es sich ganz vorrangig um ökonomische Vorteile gegenüber anderen Produktionsverfahren handelt. Die Vermutung, dass im Vergleich zum Gene Pharming andere gentechnisch verfahrenende Produktionsmethoden einen grösseren Aufwand erfordern, liefert noch keine ethische Rechtfertigung für den Einsatz transgener Tiere in der Pharmaproduktion.¹⁷⁵

Ein Gutachten zu Händen des BUWAL kommt in seinem Versuch, die Würde der Kreatur inhaltlich zu bestimmen, zum Schluss, dass angemessene Rechtfertigungsansprüche nur die Unvermeidlichkeit oder die Existenznotwendigkeit in Bezug auf den Menschen beinhalten können. Existenznotwendig sind Eingriffe dann, wenn sie einem für das Dasein des Menschen wesentlichen Bedürfnis entsprechen und weder ersetzt noch auf irgendeine Weise vermieden werden können.¹⁷⁶ Hier stellt sich die Frage, ob mittels des Gene Pharmings Medikamente zugänglich sind, die auf andere Weise – unabhängig von der ökonomischen Investition – nicht produziert werden könnten. Eine objektive Analyse, die einen Vergleich der Zugänglichkeit und der therapeutischen Wirkung von humanen Eiweissen aus verschiedenen Produktionsverfahren wie bakterielle Fermentation, Zellkulturen oder Hefe, sowie transgene Pflanzen und Tiere zulässt, fehlt aber heute.

Die Brisanz der ethischen Bewertung des Gene Pharmings zeigt sich beispielsweise in der Geschichte des Gene Pharmings in der Schweiz, wo bereits früh auf dem Gebiet des Gene Pharmings geforscht wurde.¹⁷⁷ Ein Projekt der ETH Zürich wurde bereits 1984 eingereicht und hatte das Ziel, humanes Interleukin-2 aus transgenen Kaninchen zu produzieren. Die Versuche mussten allerdings abgebrochen werden, weil ethische Bedenken geäussert wurden.¹⁷⁸

3.6 Das Pro und Kontra des Gene Pharmings

In der einschlägigen Literatur werden folgende Pro-Argumente für das Gene Pharming benannt:

- das Gene Pharming eröffnet den Zugang zur Produktion hinreichender Mengen von therapeutisch aktiven Eiweissen mit komplexer Proteinstruktur
- das Gene Pharming fällt im Vergleich zum Zellkulturverfahren, das grundsätzlich auch komplexe Eiweisse zugänglich machen würde, wirtschaftlich wesentlich günstiger aus
- das Gene Pharming muss damit als eine *high-quantity/low-cost* Verfahren für die Gewinnung humaner Wirkstoffe bewertet werden

state. But the pigs amended the maxim. Later it read „All animals are equal - but some are more equal than others.“ So may it prove with animal pharming (Hodgson, J. (1992). Whole animals for wholesale protein production. *Bio/Technology*, Vol. 10, August 1992, S. 866).

¹⁷⁵ Sitter-Liver, B. (19??). Transgene Tiere: Skandal oder Chance?

¹⁷⁶ Sitter-Liver, B. (1994). Würde der Kreatur. Grundlegung, Bedeutung und Funktion eines neuen Verfassungsprinzips. Unveröffentlichtes Manuskript, 25.9.1994, S. 21, zitiert in I. Praetorius & P. Saladin, Die Würde der Kreatur, 28.12.1994, S. 44.

¹⁷⁷ Heller, A. (1988). Die neue Sau oder Wissenschaftler proben den achten Tag der Schöpfung. Die Weltwoche, Nr. 45, 10.11.88, S. 46.

¹⁷⁸ siehe dazu: Went, D. F. (1996). Molecular pharming. *Bio World* 3/96, S. 3.

- die Bioreaktoren im Gene Pharming füttern und reproduzieren sich von selbst.

Die Kontra-Argumente zum Gene Pharming sind:

- die Herstellung von Gene Pharming Tieren bewirkt einen enormen Embryonenverschleiss
- Positionseffekte beim Gentransfer können sich negativ auf die Tiergesundheit auswirken
- die starke Expression des humanen Proteins kann Effekte auf die Tiergesundheit haben
- Gene Pharming Pharmaka können mit Spuren von tierischen Milcheiweissen verunreinigt sein, was ein Allergierisiko darstellen kann
- Gene Pharming Pharmaka können mit Tierpathogenen kontaminiert sein
- Gene Pharming Pharmaka können vom ursprünglichen humanen Eiweiss strukturell abweichen, was Nebeneffekte auslösen könnte
- Gene Pharming an Tieren steht mit der Würde der Tiere im Konflikt
- Gene Pharming Tiere werden sehr restriktiven Haltebedingungen ausgesetzt sein. Genuin als Wiedetiere gehaltene Tiere leben unter Laborbedingungen.
- Gene Pharming Tiere fallen unter die Klasse von Versuchstieren und unterstehen damit einem abgeschwächten gesetzlichen Schutz.
- Gene Pharming ist oft nur eine ökonomischere Variante zur Produktion desselben Pharmaka ohne Einsatz von Tieren
- die Pharmagewinnung aus transgenen Pflanzen wird eine immer stärkere Option.

4. Klonen

Wollen wir geklonte Kühe, Schafe und Schweine? Die Frage stellt kaum jemand, als Anfang 1997 Dolly der Weltöffentlichkeit vorgestellt wird. Geklonte Hitlers, vervielfältigte Claudia Schiffers – sie zieren die Titelseiten der Zeitungen und Magazine und lenken die Aufmerksamkeit auf eine andere Frage; eine Frage, die schnell beantwortet ist. Rund um den Globus, von Bill Clinton über den Papst bis zum Schweizer Bundesrat, ist man sich einig. Geklonte Menschen? Nein, die wollen wir nicht. Kaum ist das Schreckliche geschehen, schon ersetzt man es durch die Vorstellung des noch Schrecklicheren, man empört sich über die Möglichkeit geklonter Menschen und vergisst dabei über geklonte Tiere zu sprechen. Die Grenze ist verschoben, Dolly akzeptiert. Den Leuten der Gene Pharmingindustrie und Tierzucht kann diese Grenzverschiebung nur recht sein. Sie geben sich zwar ebenfalls verantwortlich und versichern, die Hände vom Menschen zu lassen, steigen aber gleichzeitig voll ins Tierklongeschäft ein. Dolly verspricht Dollars. Und das nicht nur, weil Dolly zeigt, wie sich erwachsene genetische Spitzentiere klonen lassen, sondern vor allem deshalb, weil das geklonte Schaf den Weg weist, wie man transgene Nutztiere schnell, gezielt und billig herstellen könnte. Für die WissenschaftlerInnen ist klar: Klone sind ein grosser Gewinn für Forschung, Landwirtschaft und Biotechnologie; sie werden die Tierzucht revolutionieren.¹⁷⁹

Begonnen hat die «Revolution» in den frühen 80er Jahre. Damals brachte die Suche nach Methoden, mit denen sich Spitzentiere kopieren lassen, erste Früchte. Wissenschaftlern gelang es, Rinder- und Schafsembryonen *in vitro* zu spalten, die Spaltprodukte in Weibchen zu verpflanzen und dadurch letztendlich eineiige, genetisch identische Mehrlinge zu

¹⁷⁹ Wilmut et al. (1999). Nuclear transfer in the production of transgenic farm animals. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), Transgenic animals in agriculture. CAB International, S. 67.

erzeugen.^{180,181} Mit der Spaltung von Embryonen (Embryo-Splitting) konnten die WissenschaftlerInnen ihr Ziel jedoch nicht erreichen. Da sie mit dem Embryo-Splitting nicht mehr als zwei bis vier Klone auf einmal herstellen konnten, blieb die Herde genetisch identischer Spitzentiere vorerst ein Traum. Neue Hoffnungen weckte dann Mitte der 80er Jahre eine zweite Methode, mit der sich Säugetiere klonen lassen: der Kerntransfer. Willadsen zeigte als erster, wie das geht.¹⁸² Er isolierte die Zellkerne von frühen, noch undifferenzierten Zellen eines Schafembryos und fügte sie in Eizellen ein, denen vorher der Kern entfernt worden war. Die Lämmer, die sich schliesslich aus den so produzierten Eizellen entwickelten, waren Klone, die mit dem kernspendenden Embryo genetisch identisch sind. Nach der ersten erfolgreichen Anwendung am Schaf, gelang die Kerntransfermethode auch bei Rindern, Kaninchen, Schweinen und Ziegen. Kommerziell durchgesetzt hat sich der Kerntransfer bisher nicht.¹⁸³ Wie beim Embryosplitting bleibt die Zahl der produzierbaren Klone zu gering. Der bisher grösste Klon besteht zwar aus elf Rindern, konnte aber nur mit sehr grossem Aufwand in einer Kombination von Splitting und Kerntransfer kreiert werden.¹⁸⁴ Die geringe Erfolgsrate des Kerntransfers wird durch die schlechte Gesundheit der Klone noch schmaler. Die geklonten Tiere haben ein viel zu hohes Geburtsgewicht, leiden oft an frühgeburtlichen Anomalien und sterben häufig kurz nach der Geburt.

Tier	Klon	Institut/Unternehmen	Quelle des Kerns	Quelle
Schaf	<i>Megan & Morag</i>	Roslin Institute, Schottland	Kultivierte Embryonalzellen	185
	<i>Dolly</i>	PPL Therapeutics & Roslin Institute, Schottland	Euterzellen eines sechsjährigen Schafes	186
	<i>Polly</i>	PPL Therapeutics & Roslin Institute, Schottland	Transgene Fibroblastenzellen aus 35 Tage altem Fötus	187
	<i>Cupid & Diana</i>	PPL Therapeutics, Schottland	(transgene Zellen, ohne weitere Angaben)	188
		AgResearch, Neuseeland	Etablierte Embryozelllinie	189
Rind	<i>George & Charlie</i>	Advanced Cell Technology, USA	Transgene Fibroblastenzellen eines 55 Tage altem Fötus	190

¹⁸⁰ Ozil, J.P. (1983). Production of identical twins by bisection of blastocysts in the cow. Journal of Reproduction and Fertility, Vol. 69, S. 463 – 468.

¹⁸¹ Willadsen, S. M. (1981). The development capacity of blastomeres from 4- and 8-cell sheep embryos. J. Embryol. Exp. Morph., Vol. 65, S. 165 – 172.

¹⁸² Willadsen, S.M. (1986) Nuclear transplantation in sheep embryos. Nature, Vol. 320, S. 63 – 65.

¹⁸³ Stice et al. (1998). Cloning: new breakthroughs leading to commercial opportunities. Theriogenology, Vol. 49, S. 129 – 138.

¹⁸⁴ Petzoldt, U. (1998). Sag' niemals nie: Neues zum Klonen von Säugetieren. Biologie in unserer Zeit, Vol. 28, Nr. 4, S. 197.

¹⁸⁵ Campbell et al. (1996). Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. Nature, Vol. 380, 7. März 1996, S. 64.

¹⁸⁶ Wilmut et al. (1997). Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature, Vo. 385, 27. Februar 1997, S. 810.

¹⁸⁷ Schnieke et al. (1997). Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts. Science Vol. 278, 19. Dezember, S. 2130.

¹⁸⁸ ISB News Report, November 1999.

¹⁸⁹ Wells et al. (1997). Production of cloned lambs from an established embryonic cell line: a comparison between in vivo- and in vitro-maturated cytoplasts. Biological Reproduction, Vol. 57, S. 385 – 393.

¹⁹⁰ Pennisi, E. (1998). After Dolly, a pharming frenzy. Science, Vol. 279, 30. Januar 1998, S. 647. Cibelli et al. (1998). Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts. Science, Vo. 280, 22. Mai 1998, S. 1256.

	<i>Mr Jefferson</i>	PPL Therapeutics, Blacksburg, Virginia, USA	Zellen eines Fötus	191
	<i>Gene</i>	ABS Global & Infigen Inc., USA	Zellen eines 30 Tage alten Fötus	192
	<i>Galileo</i>	Laboratorio di tecnologie della Riproduzione, Cremona, Italia	(ohne genaue Angaben)	193
		Laboratory of Animal Reproduction, Kinki University, Japan.	Kumulus- und Eileiterzellen einer erwachsenen Kuh	194
		Kagoshima Prefecture Cattle Breeding Development Institute, Japan.	(ohne genaue Angaben)	195
	<i>Mitsufuku</i>	Livestock Improvement Association of Japan & Tohoku University, Japan	Zellen eines erwachsenen Bullen	196
		AgResearch, Neuseeland	Kultivierte Granulosezellen einer dreijährigen Kuh	197
	<i>Uschi</i>	Universität München	Euterzellen einer erwachsenen Kuh	198
	<i>Second Chance</i>	A & M University, USA	Hautzellen eines 21 Jahre alten Bullen	199
	<i>Marguerite</i>	INRA	Muskelzelle eines 60 Tage alten Fötus	200
		INRA	Hautzellen eines 15 Tage alten Kalbes	201
Ziege		Genzyme Transgenic Corporation & Tufts University & Louisiana State University, USA	Transgene Fibroblastenzellen eines 40 Tage alten Foetus.	202
	<i>Clint, Arnold & Danny</i>	Nexia Biotechnologies Inc., Kanada	(ohne genaue Angaben)	203

Tabelle 10: Beispiele von geklonten Nutztieren, deren Kern aus differenzierten Zellen stammt.

¹⁹¹ BBC News, 23. Februar 1998.

¹⁹² Robertson, D. (1997). „Gene“, another landmark in farmyard cloning. Nature Biotechnology, Vol. 15, September 1997, S.

¹⁹³ AgraFood Biotech, Nr, 15, 13. Oktober 1999, S. 25.

¹⁹⁴ Kato, et al. (1998). Eight calves cloned from somatic cells of a single adult. Science, Vol. 282, S. 2095 – 2098.

¹⁹⁵ Normile, D. (1998). Bid for better beef gives Japan a leg up on cattle. Science, Vol. 282, 11. Dezember 1998, S. 1975.

¹⁹⁶ MAFF Update, Nr. 302, 26. März 1999; www.maff.go.jp

¹⁹⁷ Wells et al. (1999). Production of cloned calves following nuclear transfer with cultured adult mural granulosa cells. Biology of Reproduction, Vol. 60. S. 996.

¹⁹⁸ Zakhartchenko et al. (1999). Effects of serum starvation and re-cloning on the efficiency of nuclear transfer using bovine fetal fibroblasts. Journal of Reproduction and Fertility. Vo. 115, Nr. 2, S. 325-331; Süddeutsche Zeitung vom 9. Januar 1999.

¹⁹⁹ BBC News, 3. September 1999.

²⁰⁰ Butler, D. (1998). French clone provides support for Dolly. Nature, Vol. 392, 12. März 1999, S. 113.

²⁰¹ Renard et al. (1999). Lymphoid hypoplasia and somatic cloning. The Lancet, Vol. 353, Nr. 9163, 1. Mai 1999, S.1489 – 91.

²⁰² Baguisi et al. (1999). Production of goats by somatic cell nuclear transfer. Nature Biotechnology, Vol. 17, Mai 1999, S. 456 – 461.

²⁰³ www.newswire.ca/releases/April1999/26/c6092.html

Der Weltbestand an geklonten Tieren ist daher klein. Bei Rindern zum Beispiel schätzt man, dass nur tausend bis zweitausend Klone existieren.²⁰⁴ Ein Grund für die geringe Ausbeute liegt in der Biologie: Schafs-, Rinder- oder Ziegenembryos liefern nur sehr wenige Zellen, die sich für den Kerntransfer eignen. Will man eine grössere Anzahl Klone produzieren, müsste man also die natürliche Beschränkung umgehen. Schottische WissenschaftlerInnen vom Roslin Institut kamen deshalb auf die Idee, die geeigneten Embryonalzellen *in vitro* zu kultivieren und zu vermehren, um sie dann als Kernspender zu verwenden. Mit der Geburt von Megan und Morag 1995 war die Idee zur Tat geworden: Die beiden Schafe sind die ersten geklonten Säugetiere, deren Kern aus kultivierten und differenzierten Embryonalzellen stammt.²⁰⁵ Nach diesem erfolgreichen Versuch, gingen die schottischen WissenschaftlerInnen noch einen Schritt weiter und testeten, ob auch Zellen von Föten und ausgewachsenen Schafen als Kernspender dienen könnten. Dazu nahmen sie Fibroblastenzellen eines 26-Tage alten Fötus sowie Euterzellen eines sechsjährigen Schafes in Kultur, liessen dort die Zellen wachsen und unterzogen sie schliesslich einer Behandlung, die ihre Differenzierung rückgängig macht. Die behandelten Zellen wurden dann mit entkernten Eizellen fusioniert und in scheinträchtige Schafe eingefügt. Das Resultat: Während das Lamm, dessen Kern aus einer fötalen Fibroblastenzelle stammt, wenige Minuten nach der Geburt starb, sorgte das andere Schaf für Schlagzeilen: Dolly, das erste Säugetier, das aus Zellen eines erwachsenen Tieres geklont ist.²⁰⁶

Megan, Morag und Dolly – sie sind der Beginn einer neuen Ära. Sie widerlegen nicht nur ein altes Dogma der Biologie²⁰⁷, sondern bieten der Grundlagenforschung, der Tierzucht und der Pharmaindustrie auch lang ersehnte Möglichkeiten. Kein Wunder also, haben WissenschaftlerInnen rund um den Globus versucht, die Versuche der schottischen ForscherInnen zu wiederholen. Der Erfolg blieb ihnen nicht versagt. Zu Megan & Morag gesellten sich die Kälber Gene, Mr. Jefferson und Marguerite sowie die Ziegen Clint, Arnold & Danny. Und Dolly, die jüngst ihr erstes Lamm Bonny warf, bekam Gesellschaft von den aus erwachsenen Tieren geklonten Rindern Uschi, Second Chance, Mitsufuku und Galileo (siehe Tabelle 10). Die wahren Helden sind aber die Schafe, Ziegen und Rinder, die nicht nur geklont, sondern auch transgen sind: Polly, Cupid & Diana und George & Charlie. Sie zeigen nämlich, welche Bedeutung der Kerntransfer hat: Auch wenn der Kerntransfer das Kopieren ausgewachsener, wertvoller Individuen erlaubt, die erste kommerzielle Anwendung der Methode wird die Produktion transgener Tiere sein.^{208,209}

4.1 Kerntransfer und Transgenese

Seit 1985 die ersten transgenen Nutztiere produziert worden sind, haben sich die Methoden kaum geändert.²¹⁰ TierzüchterInnen verwenden immer noch hauptsächlich die

²⁰⁴ Wolf, E., Zakhartchenko, V. & Brem, G. (1998). Nuclear transfer in mammals: recent development and future perspectives. *Journal of Biotechnology*, Vol. 65, S. 99 – 110.

²⁰⁵ Campbell et al. (1996). Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*, Vol. 380, 7. März 1996, S. 64.

²⁰⁶ Wilmut et al. (1997). Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, Vol. 385, 27. Februar 1997, S. 810.

²⁰⁷ Bis zur Geburt der drei Schafe waren die Biologinnen überzeugt, dass aus differenzierten Zellen nie mehr ein ganzer Organismus entstehen kann.

²⁰⁸ Anderson, G.B. & Seidel, G.E. (1998). Enhanced: cloning for profit. *Science*, Vol. 280, Nr. 5368, 29. Mai 1998, S. 1400.

²⁰⁹ Jänne, J. & Alhonen, L. (1998). Transgenic livestock as bioreactors. In: Castro, F.O. & Jänne, J. (eds.), *Mammary gland transgenesis: therapeutic protein production*. Springer-Verlag, S. 161.

²¹⁰ Pinkert, C.A. & Murray, J.D. (1999). Transgenic farm animals. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), *Transgenic animals in agriculture*. CAB International, S. 6.

Injektionsmethode und stehen im dauernden Kampf mit den Problemen, die sich daraus ergeben: schlechte Effizienz, geringe Voraussagbarkeit, kranke Tiere und hohe Kosten²¹¹⁻²¹³. Eifersüchtig schielen TierzüchterInnen in die Labors der Pharmaindustrie, wo ihre KollegInnen seit längerem mit embryonalen Stammzellen hantieren können, wenn sie ihre Mäuse transgen machen. Die Probleme sind sie dort damit zwar nicht alle los, doch geht bei ihnen vieles einfacher und gezielter. *Knock-out, knock-in, in vitro* Tests und bessere Effizienz – was den Pharmaleuten bei den Mäusen dank embryonalen Stammzellen gelingt, davon konnten die NutztierzüchterInnen nur träumen. Alle ihre Versuche, von Schafen, Rindern, Ziegen und Schweinen embryonale Stammzellen zu gewinnen, sind bisher trotz grosser Bemühungen fehlgeschlagen.²¹⁴ Jetzt dürfte die Suche nach embryonalen Stammzellen überflüssig werden. Weshalb sich die Suche erübrigt, das zeigten wieder einmal die WissenschaftlerInnen vom schottischen Roslin Institut. Sie sind die ersten, die den Kerntransfer mit der Transgenese verbanden. Was sie sich dabei zu Nutze machten, sind die *in vitro* kultivierbaren Zellen, die beim Kerntransfer als Kernspender dienen. Mit den kultivierbaren Zellen verfügen die WissenschaftlerInnen zum ersten Mal über eine grosse Menge an manipulierbarem Zellmaterial, vergleichbar mit den embryonalen Stammzellen. Am Roslin Institut gingen die WissenschaftlerInnen folgendermassen vor: Sie nahmen Fibroblastenzellen eines 35-Tage alten Schafsfötus, vermehrten diese *in vitro* und fügten ihnen das menschliche Faktor IX-Gen ins Erbgut ein. Dann nutzten sie die Möglichkeit, die sie bei der Injektionsmethode nicht haben: sie testeten, ob die Zellen das Transgen aufgenommen hatten. Schliesslich fusionierten sie die Zellen, die den Test bestanden, mit entkernten Eizellen und setzten das Fusionsprodukt in scheinträchtige Schafe. Das Resultat ist Polly, das geklonte Schaf, das ein fremdes Gen im Erbgut hat.²¹⁵

Mit dem Kerntransfer steht den NutztierwissenschaftlerInnen erstmals eine grosse Anzahl Zellen zur Verfügung, die sie gentechnisch verändern können. Der Vorteil gegenüber der bisherigen Methoden, bei der nicht-kultivierbare Eizellen kurz nach der Befruchtung gentechnisch verändert werden, ist gewaltig und kommt den Erfolgen mit den embryonalen Stammzellen gleich. Die Kombination von Transgenese und Kerntransfer macht vieles möglich: Das Geschlecht der transgenen Nachkommen kann bestimmt werden, die gentechnisch veränderten Zellen können vor dem Transfer in scheinträchtige Leihmütter untersucht werden, Gene können gezielt ausgeschaltet oder eingesetzt werden (*knock-out, knock-in*), der Integrationsort lässt sich feststellen, transgene Chimären lassen sich verhindern und in der ganzen Prozedur wird viel Zeit eingespart.²¹⁶⁻²¹⁹ Alles in allem: Die Herstellung transgener

²¹¹ Wall, R.J. & Seidel, G.E., Jr. (1992). Transgenic farm animals – a critical analysis. *Theriogenology*, Vol. 38, S. 337 – 357.

²¹² Wall, R.J. (1996). Transgenic livestock: progress and prospects for the future. *Theriogenology*, Vol. 45, S. 57 – 68.

²¹³ Pinkert, C.A. & Murray, J.D. (1999). Transgenic farm animals. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), *Transgenic animals in agriculture*. CAB International, S. 6.

²¹⁴ Pinkert, C.A. & Murray, J.D. (1999). Transgenic farm animals. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), *Transgenic animals in agriculture*. CAB International, S. 6.

²¹⁵ Schnieke et al. (1997). Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts. *Science* Vol. 278, 19. Dezember, S. 2130.

²¹⁶ Wilmut, I. (1999). Klonen für medizinische Zwecke. *Spektrum der Wissenschaft* 4, April 1999, S. 34.

²¹⁷ Wolf, E., Zakhartchenko, V. & Brem, G. (1998). Nuclear transfer in mammals: recent development and future perspectives. *Journal of Biotechnology*, Vol. 65, S. 99 – 110.

Nutztiere verspricht effizienter, schneller und kostengünstiger zu werden. Noch steckt die Verbindung von Kerntransfer und Gentechnik in den Kinderschuhen. Zwar ist Polly nicht allein geblieben, auch andere Schafe²²⁰ sowie Rinder²²¹ und Ziegen²²² sind mittlerweile geklont und transgen geboren worden, ausgereift sind die Techniken deshalb aber nicht. Dazu bestehen noch zu grosse Probleme.

4.2 Probleme beim Klonen

Die Probleme kommen nicht allein vom gentechnischen Eingriff, sondern liegen vor allem beim Kerntransfer. Sie betreffen somit auch geklonte Nutztiere, deren Erbgut nicht verändert ist.

	Dolly ²²³	Transgene, geklonte Ziegen ²²⁴	Transgene, geklonte Schafe ²²⁵	Transgene, geklonte Rinder ²²⁶
Rekonstruierte Embryos	277	92	89	276
Transferierte Embryos	29	38	19	28
Lebend geborene Kälber	1	2	2	4
Effizienz	0.36%	2.2%	2.25%	1.45%

Tabelle 11: Effizienz bei der Herstellung geklonter Tiere; Effizienz: Lämmer pro rekonstruierte Embryonen.

Ein bisher ungelöstes Problem ist die geringe Effizienz. Nur wenige der produzierten Embryonen schliessen die Entwicklung ab (Tabelle 11). Und schaffen sie es doch bis zur Geburt, so tragen sie häufig Schäden davon. Das augenfälligste Merkmal der neugeborenen geklonten Tiere ist ihr hohes Geburtsgewicht.^{227,228} Weniger gut sichtbar, aber ebenso schwerwiegend ist das schlecht entwickelte Atmungssystem, unter dem vor allem Klone von erwachsenen Tieren leiden. Die Todesrate neugeborener Klone ist dementsprechend hoch. In

²¹⁸ Wilmut et al. (1999). Nuclear transfer in the production of transgenic farm animals. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), Transgenic animals in agriculture. CAB International, S. 67.

²¹⁹ Stice et al. (1998). Cloning: new breakthroughs leading to commercial opportunities. Theriogenology, Vol. 49, S. 129 – 138.

²²⁰ ISB News Report, November 1999.

²²¹ Cibelli, J.B., Stice, S.L., Golueke, P.J., Kane, J.J., Jerry, J., Blackwell, C., Ponce de Léon, A.F. & Robl, J.M. (1998). Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts. Science, Vo. 280, 22. Mai 1998, S. 1256.

²²² Baguisi et al. (1999). Production of goats by somatic cell nuclear transfer. Nature Biotechnology, Vol. 17, Mai 1999, S. 456 – 461.

²²³ Wilmut et al. (1997). Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature, Vol. 385, 27. Februar 1997, S. 810.

²²⁴ Baguisi et al. (1999). Production of goats by somatic cell nuclear transfer. Nature Biotechnology, Vol. 17, Mai 1999, S. 456 – 461.

²²⁵ Schnieke et al. (1997). Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts. Science Vol. 278, 19. Dezember, S. 2130.

²²⁶ Cibelli et al. (1998). Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts. Science, Vo. 280, 22. Mai 1998, S. 1256.

²²⁷ Wilmut et al. (1999). Nuclear transfer in the production of transgenic farm animals. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), Transgenic animals in agriculture. CAB International, S. 67.

²²⁸ Idel, A. (1999). Gentechnische Manipulation und Klonen bei landwirtschaftlich genutzten Tierarten. Bericht für die Enquete-Kommission Genetchnik des Schleswig-Holsteinischen Landtages.

Japan zum Beispiel sind acht von fünfzehn aus erwachsenen Zellen geklonten Kälbern innert drei Tagen nach der Geburt gestorben. Aus diesem Grund und angesichts der 71 Kühe, die im November 1998 in Japan mit geklonten Embryonen trächtig waren, gab das japanische Ministerium für Landwirtschaft, Forstwirtschaft und Fischerei (MAFF) Ende 1998 eine Studie in Auftrag, die den Effekte der Klonierungstechnik genauer untersucht.²²⁹ Nicht die frühgeburtlichen Schäden, sondern die Spätfolgen des Klonens waren das Thema einer französischen Studie. WissenschaftlerInnen vom Institut National de la Recherche Agronomique in Jouy-en-Josas untersuchten ein einzelnes Kalb, das sie aus einer Ohrzelle einer erwachsenen Kuh erzeugt hatten.²³⁰ Dabei stellten sie etwa vier Wochen nach der Geburt des Kalbes fest, dass die Zahl der roten und weissen Blutkörperchen stark abgenommen hatte. Nach sechs Wochen starb das Kalb. Die Obduktion deckte mehrere Defekte des Lymphsystems auf: Thymusdrüse, Milz und Lymphknoten waren nicht normal entwickelt. An Dolly wurden nie derart schwerwiegende Effekte festgestellt. Der berühmteste aller Klon weist dafür eine andere Besonderheit auf: Telomerlängen, die nicht ihrem Alter entsprechen.²³¹ Als Telomere bezeichnet man die Enden der Chromosomen. Sie verkürzen sich während des Alterns bei jeder Zellteilung. Da Dolly aus einer Euterzelle eines erwachsenen Schafes erzeugt wurde, hat sie verkürzte Telomere geerbt. Wie sich dies auswirken wird und ob die kurzen Telomere die Lebensdauer des geklonten Schafs beeinflussen, ist ungewiss.

Die Zahl der bisherigen Untersuchungen reicht nicht aus, die Kerntransfermethode mit kultivierten, differenzierten Zellen abschliessend zu beurteilen. Solange die bestehenden Probleme jedoch nicht geklärt und gelöst sind, wird sich die Methode für das Kopieren landwirtschaftlich genutzter Spitzentiere vermutlich nicht durchsetzen. Mit Sicherheit durchsetzen wird sie sich bei der Herstellung transgener Nutztiere. Hier wird man zwar auch darum bemüht sein, die Probleme zu lösen, aber die Vorteile, die der Kerntransfer mit kultivierten, differenzierten Zellen gegenüber den bisherigen gentechnischen Methoden mit sich bringt, sind so gross, dass man die Probleme in Kauf nimmt.

Die Ziele, die NutztierzüchterInnen mit transgenen Tieren erreichen wollen, bleiben dieselben, sollen nun aber dank der neuen Kerntransfermethode schneller, billiger und effizienter erreicht werden. An vorderster Stelle steht das Gene Pharming. Doch in den Köpfen der ZüchterInnen erwachen jetzt auch wieder die Herden mit transgenen Schafen, Kühen und Schweinen, die schneller wachsen, fettarmes Fleisch bilden, nicht erkranken und menschliche Milch produzieren. Noch sind die Ideen umzusetzen, aber spätestens bei ihrer Vollendung wird die Frage wieder auftauchen, die bei der medialen Vorführung von Dolly kaum gestellt wurde: Wollen wir geklonte Tiere?

5. Exkurs: Biotechnische Verfahren in der Nutztierzucht

Molekularbiologische Kenntnisse und Methoden werden in der Tierzucht nicht allein für die Herstellung transgener Nutztiere verwendet. Sie werden zunehmend auch dazu benutzt, die klassischen Züchtungsverfahren zu verfeinern und zu verbessern. Je mehr biotechnische Methoden in der Tierzüchtung zur Anwendung kommen, desto stärker verlagert sich der züchterische Selektionsprozess von der phänotypischen auf die genotypische Ebene.

²²⁹ Saegusa, A. (1998). Japan studies elevated cloning death. *Nature Biotechnology*, Vol. 16, November 1998, S. 992.

²³⁰ Renard et al. (1999). Lymphoid hypoplasia and somatic cloning. *The Lancet*, Vol. 353, Nr. 9163, 1. Mai 1999, S.1489 – 91.

²³¹ Shiels et al. (1999). Analysis of telomere lengths in cloned sheep. *Nature*, Vol. 399, 29. Mai 1999, S. 316 – 317.

5.1. Gentests

Zur Zeit arbeitet man daran, Genome verschiedener Nutztierarten zu sequenzieren und die im Erbgut der Tiere vorhandenen Gene zu identifizieren.²³² Die Informationen, die dabei anfallen, können in der Tierzucht genutzt werden. Eine der wichtigsten Anwendungsmöglichkeiten ist die Gendiagnostik.²³³ Ist die Sequenz eines züchterisch wertvollen Gens einmal bekannt, kann man mit DNA-Sonden testen, ob ein Nutztier dieses Gen besitzt. So werden Tiere mit wünschenswerten Eigenschaften identifiziert und dann für die Weiterzucht verwendet. Gentests werden auch dazu benutzt, Tiere mit unerwünschten Erbanlagen (Erbkrankheiten) zu erkennen und vom Züchtungsprozess auszuschließen. Verschiedene, züchterisch relevante DNA-Sequenzen sind bereits bekannt und patentiert. Gendiagnostische Verfahren ermöglichen auch, beim Embryonentransfer das Geschlecht zu bestimmen, und sie erleichtern die Abstammungssicherung von Nutztieren. Neben der Tierzucht werden Gentests auch in der Tiermedizin verwendet. Hier ermöglichen sie neue Möglichkeiten für die Diagnose und Prävention von Tierkrankheiten.

5.2 Marker-unterstützte Selektion

Anders als bei der Gendiagnose mit DNA-Sonden braucht man bei der Marker-unterstützten Selektion (*marker assisted selection*, MAS) die Sequenz der relevanten Zielgene nicht zu kennen. Das Vorgehen ist ein anderes: Man bestimmt auf den Chromosomen sogenannte DNA-Polymorphismen, die mit grosser Wahrscheinlichkeit mit dem Zielgen vererbt werden. Für die Bestimmung der DNA-Polymorphismen stehen verschiedene Methoden zur Verfügung, wie RLFP (restriction fragment length polymorphism), VNTR (variabel number tandem repeat) oder RAPD (random amplified polymorphic DNA). Polymorphismen markieren das Zielgen mit genügender Sicherheit und ermöglichen damit eine Marker-gestützte Selektion.

Die Marker-gestützte Selektion weist gegenüber der phänotypische Selektion grosse Vorteile auf.²³⁴ So ermöglicht sie unter anderem, die Selektion unabhängig vom Geschlecht und Alter eines Tiers durchzuführen. Und sie erleichtert die Selektion auf polygene Eigenschaften – eine wichtige Verbesserung, da die meisten tierzüchterisch relevanten Eigenschaften polygener Natur sind. Fachleute versprechen sich denn auch einiges von den Marker-gestützten Selektion.^{235,236} Und die Forschung in diesem Bereich läuft auf Hochtouren.

Anders als die Züchtung mit gentechnischen Methoden greift die Marker-gestützte Selektion nicht direkt ins Erbgut der Tiere ein. Gearbeitet wird hier nur mit genetischen Material, das bereits im Genpool der Tiere vorhanden ist. In dieser Hinsicht bietet sich die Marker-gestützte Selektion als Alternative zu transgenen Nutztieren an.

²³² Archibald, A.L. (1998). In: Clark, A.J. (Ed.), *Animal breeding. Technology for the 21st century*. Harwood Academic Publishers, S. 137 – 164.

²³³ Herzog, A. (1998). Genomanalytik für Tierzucht, Tiergesundheit und Produktqualität. In: Evangelische Akademie Bad Boll (Hrsg.), *Gene und Klone*. Protokolldienst 20/98, S. 38 – 44.

²³⁴ Visscher, P.M., van der Beck, S. & Haley, C.S. (1998). Marker assisted selection. In: Clark, A.J. (Ed.), *Animal breeding. Technology for the 21st century*. Harwood Academic Publishers, S. 119 – 136.

²³⁵ George, M. (1997). Recent progress in mammalian genomics and its application for the selection of candidate transgenes in livestock species. In: Houdebine, L.M. (ed.), *Transgenic animals*. Harwood Academic Publishers, S. 519 – 524.

²³⁶ Visscher, P.M., van der Beck, S. & Haley, C.S. (1998). Marker assisted selection. In: Clark, A.J. (Ed.), *Animal breeding. Technology for the 21st century*. Harwood Academic Publishers, S. 119 – 136.

7. Literatur

- Amato, I. (1993). A biotech bonanza on the hoof? *Science*, Vol. 259, 19.3.93, S. 1698.
- Anderson, G.B. & Seidel, G.E. (1998). Enhanced: cloning for profit. *Science*, Vol. 280, Nr. 5368, 29. Mai 1998, S. 1400.
- Archibald, A.L. (1998). In: Clark, A.J. (Ed.), *Animal breeding. Technology for the 21st century*. Harwood Academic Publishers, S. 137 – 164.
- Arntzen, C. J. (1999). High-tech herbal medicine: Plant-based vaccines. *Nature Biotechnology*, Vol. 15, März 1997, S. 221 – 222.
- Baguisi, A., Behboodi, E., Melican, D. T., Pollock, J., S., Destrempes, M. M., Cammuso, C., Williams, J. L., Nims, S. D., Porter, C. A., Midura, P., Palacios, M. J., Ayres, S. L., Denniston, R. S., Hayes, M. L., Ziomek, C. A., Meade, H. M., Godke, R. A., Gavin, W. G., Overström, E. W. & Echelard, Y. (1999). Production of goats by somatic cell nuclear transfer. *Nature Biotechnology*, Vol. 17, Mai 1999, S. 456 – 461.
- Bawden, C.S., Sivaprasad, A.V., Verma, P.J., Walker, S.K. & Rogers, G.E. (1995). Expression of bacterial cysteine biosynthesis genes in transgenic mice and sheep: towards a new amino acid biosynthesis pathway and improved wool growth. *Transgenic Research*, Vol. 4, S. 87 – 104.
- Bleck, G.T., White, B.R., Hunt, E.D., Rund, L.A., Barnes, J., Bidner, D. et al. (1996). Production of transgenic swine containing the bovine α -lactalbumin gene. *Theriogenology*, Vol. 45, S. 347.
- Bonnerot, C., Grimber, G., Briand, P. & Nicolas, J.-F. (1990). Patterns of expression of position-dependent integrated transgenes in mouse embryo. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 87, S. 6331.
- Brem, G., Besenfelder, U., Aigner, B., Müller, M., Liebl, I., Schütz, G. & Montoliu, L. (1996). YAC transgenesis in farm animals: rescue of albinism in rabbits. *Molecular Reproduction and Development*, Vol. 44, S. 56.
- Brem, G., Brenig, B., Goodman, H.M., Selden, R.C., Graf, F., Kruff, B. et al. (1985). Production of transgenic mice rabbits and pigs by microinjection into pronuclei. *Zuchthygiene*, Vol. 20, S. 251 – 252.
- Bremel, R.D. (1996). Potential role of transgenesis in dairy production and related areas. *Theriogenology*, Vol. 45, S. 51 – 56.
- Bullock, D.W., Damak, S., Jay, N.P., Su, H.-Y. & Barell, G.K. (1997). Improved wool production from insulin-like growth factor 1 targeted to the wool follicle in transgenic sheep. In: Houdebine, L.M. (ed.), *Transgenic animals*. Harwood Academic Publishers, S. 507 – 509.
- Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (1998). *Biotechnologie für den Agrar- und Ernährungsbereich*. Angewandte Wissenschaft, Heft 471, S. 110.
- Butler, D. (1999). Europe is urged to hold back on xenotransplant clinical trials. *Nature*, Vol. 397, 28.1.99, S. 281.
- Butler, D. (1998). French clone provides support for Dolly. *Nature*, Vol. 392, 12. März 1999, S. 113.
- Campbell, K.H.S., McWhir, J., Ritchie, W.A. & Wilmut, I. (1996). Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*, Vol. 380, 7. März 1996, S. 64.

Cibelli, J.B., Stice, S.L., Golueke, P.J., Kane, J.J., Jerry, J., Blackwell, C., Ponce de Léon, A.F. & Robl, J.M. (1998). Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts. *Science*, Vol. 280, 22. Mai 1998, S. 1256.

Clements, J.E., Wall, R.J., Narayan, O., Hauer, D., Schoborg, R., Sheffer, D., Powell, A., Carruth, L.M., Zink, M.C. & Rexroad, C.E. (1994). Development of transgenic sheep that express the visna virus envelope gene. *Virology*, Vol. 200, S. 370 – 380.

Coghlan, A. (1999). Big breakfast. Crack open an egg and cure a disease. *New Scientist*, 13.11.99, S. 25.

Coleman, M.E., Pursel, V.G., Wall, R.J., Haden, M., DeMayo, F. & Schwartz, R.J. (1995). Regulatory sequences from the avian skeletal α -actin gene directs high level expression of human insulin-like growth factor-I cDNA in skeletal muscle of transgenic pigs. *Journal of Animal Science*, Vol. 73, Suppl. 1, S. 145.

Crittenden, L.B. & Salter, D.W. (1992). A transgene, alv 6, that expresses the envelope of subgroup A avian leukosis virus reduces the rate of congenital transmission of a field strain of avian leukosis virus. *Poultry Science*, Vol. 71, S. 799 – 806.

Croce, C.M. & Klein, G. (1985). Chromosomen-Translokationen und Krebs. *Spektrum der Wissenschaft*, Mai 1985.

Damak, S., Su, H.-Y., Jay, N.P., & Bullock, D.W. (1996). Improved wool production in transgenic sheep expressing insulin-like growth factor I. *Bio/Technology*, Vol. 14, S. 185 – 188.

DiPaolo, B., Pennetti, A., Nugent, L. & Venkat, K. (1999). Monitoring impurities in biopharmaceuticals produced by recombinant technology. *PSST*, Vol. 2, No. 2, Februar 1999, S. 70.

Drohan, W.N., Lubon, H. & Velandar, W.H. (1997). Menschliche Proteine aus der Milch transgener Tiere. *Spektrum der Wissenschaft*, März 1997, S. 70.

Ebert, K.M., Low, M.J., Overstrom, E.W., Buonomo, F.C., Baile, C.A., Roberts, T.M., Lee, A., Mandel, G. & Goodman, R.H. (1988). A Moloney MLV-rat somatropin fusion gene produces biologically active somatropin in an transgenic pig. *Molecular Endocrinology*, Vol. 2, S. 277 – 283.

Ebert, K.M., Smith, T.E., Buonoma, F.C., Overstrom, E.W. & Low, M.J. (1990). Porcine growth hormone gene expression from viral promoters in transgenic swine. *Animal Biotechnology*, Vol. 1, S. 145 – 159.

Eyestone, W. H. (1999). Production of transgenic cattle expressing a recombinant protein in milk. In: Murray, J. D., Anderson, G. B., Oberbauer, A. M. & McGloughlin, M. M., *Transgenic Animals in Agriculture*. CAB International, 1999, S. 177.

Eystone, W.H. (1998). Techniques for the production of transgenic livestock. In: Clark, A.J. (Ed.), *Animal breeding. Technology for the 21st century*. Harwood Academic Publishers, S. 167 - 181.

Gavora, J.S., Benkel, B., Spencer, J.L., Gagnon, C. & Crittenden, L.B. (1995). Influence of the alv 6 recombinant avian leukosis virus transgene on production traits and infection with avian tumor viruses in chickens. *Poultry Science*, Vol. 74, S. 852 – 863.

George, M. (1997). Recent progress in mammalian genomics and its application for the selection of candidate transgenes in livestock species. In: Houdebine, L.M. (ed.), *Transgenic animals*. Harwood Academic Publishers, S. 519 – 524.

- Gura, T. (1999). New ways to glean medicines from plants. *Science*, Vol. 285, 27.8.99, S. 1347.
- Hammer, R.E., Pursel, V.G., Rexroad, C.E., Wall, R.J., Bolt, D.J., Ebert, K.M., Palmiter, R.D. & Brinster, R.L. (1985). Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection. *Nature*, Vol. 315, S. 680 – 683.
- Hankeln, T. & Schmidt, E. R. (1997). Transgene Tiere in Forschung, Medizin und Landwirtschaft. In: Brandt, P. (Hrsg.). *Zukunft der Gentechnik*. Birkhäuser Verlag, 1997, S. 110.
- Heller, A. (1988). Die neue Sau oder Wissenschaftler proben den achten Tag der Schöpfung. *Die Weltwoche*, Nr. 45, 10.11.88, S. 46.
- Hennighausen, L. (1997). Transgenic factor VIII: The milky way and beyond. *Nature Biotechnology*, Vol. 15, Oktober 1997, S. 945.
- Herzog, A. (1998). Genomanalytik für Tierzucht, Tiergesundheit und Produktqualität. In: Evangelische Akademie Bad Boll (Hrsg.), *Gene und Klone*. Protokolldienst 20/98, S. 38 – 44.
- Hill, K.G., Curry, J., DeMayo, F.J., Jones-Diller, K., Slapak, J.R. & Bondioli, K.R. (1992). Production of transgenic cattle by pronuclear injection. *Theriogenology*, Vol. 37, S. 222.
- Hodgson, J. (1992). Whole animals for wholesale protein production. *Bio/Technology*, Vol. 10, August 1992, S. 863.
- Houdebine, L.M. (1995). The production of pharmaceutical proteins from the milk of transgenic animals. *Reproduction Nutrition Development*. Vol. 35, S. 609 – 617.
- Hüsing, B., Engels, E.-M., Frick, T., Menrad, K. & Reiss, T. (1998). Xenotransplantation. Schweizerischer Wissenschaftsrat (Hrsg.). *Technology Assessment*, TA 30/1998.
- Idel, A. (1999). Gentechnische Manipulation und Klonen bei landwirtschaftlich genutzten Tierarten. Bericht für die Enquete-Kommission Gentechnik des Schleswig-Holsteinischen Landtages.
- Idel, A. (1999). Krankheitsresistenz durch Genmanipulation. *Ökologie & Landbau* Vol 122, Nr. 4, S. 28 – 29.
- Idel, A. (1999). Mehr Fleisch, mehr Milch, mehr Krankheiten. *GID*, Nr. 132, April/Mai 1999, S. 7 – 11.
- Ikeno, M., Grimes, B., Okazaki, T., Nakano, M., Saitoh, K., Hoshino, H., McGill, N. I., Cooke, H. & Masumoto, H. (1998). Construction of YAC-based mammalian artificial chromosomes. *Nature Biotechnology*, Vol. 16, Mai 1998, S. 431.
- James, R. (1992). Transgenic animals in the production of therapeutic proteins. *Biotechnology International*, 1992, S. 317.
- Jänne, J. & Alhonen, L. (1998). Transgenic livestock as bioreactors. In: Castro, F.O. & Jänne, J. (eds.), *Mammary gland transgenesis: therapeutic protein production*. Springer-Verlag, S. 161.
- Jänne, J., Alhonen, L., Hyttinen, J.-H., Peura, T. & Tolvanen, M. (1998). Transgenic dairy cattle. In: Castro, F.O. & Jänne, J. (eds.), *Mammary gland transgenesis: therapeutic protein production*. Springer-Verlag, S. 177 – 193.
- Jänne, J., Hyttinen, J.-M., Peura, T., Tolvanen, M., Alhonen, L., Sinervirta, R. & Halmekytö, M. (1994). Transgenic bioreactors. *Int. J. Biochem.*, Vol. 26, No. 7, S. 859.
- Jost, B., Vilotte, J.-L., Duluc, I., Rodeau, J.-L. & Freund, J.-N. (1999). Production of low-lactose milk by ectopic expression of intestinal lactase in the mouse mammary gland. *Nature Biotechnology*, Vol. 17, Februar 1999, S. 160 – 164.

- Karatzas, C.N. & Turner, J.D. (1997). Toward altering milk composition by genetic manipulation: current status and challenges. *Journal of Dairy Science*, Vol. 80, S. 2225 – 2232;
- Katalyse (Hrsg.) (1995). *Neue Chemie in Lebensmitteln*. Zweitausendeins, Frankfurt am Main, S. 253.
- Kato, Y., Tani, T., Sotomaru, Y., Kurokawa, K., Kato, J., Doguchi, H., Yasue, H. & Tsunoda, Y. (1998). Eight calves cloned from somatic cells of a single adult. *Science*, Vo. 282, S. 2095 – 2098.
- Kennedy, I. & Sewell, H. (1998). Xenotransplantation moratorium. *Nature Biotechnology*, Vol. 16, Februar 1998, S. 120.
- Kollek, R. (1989). Neue Kriterien für die Abschätzung des Risikos. In: Thureau, M. (Hrsg.). *Wer kontrolliert die Industrie?* Fischer.
- Kozyrovskaya, N. A., Gvozdyak, R. I., Muras, V. A. & Kordyum, V. A. (1984). Changes in properties of phytopathogenic bacteria affected by plasmid pRD1. *Arch. Microbiol.*, Vol. 137, S. 338.
- Krimpenfort, P., Rademakers, A., Eyestone, W., van de Schans, A., van den Broek, S., Kooiman, P., Kootwijk, E., Platenburg, G., Pieper, F., Strijker, R. & deBoer, H.A. (1991). Generation of transgenic dairy cattle using in vitro embryo production. *Bio/Technology*, Vol. 9, S. 844 – 847.
- L'Huillier, P.J., Soulier, S., Stinnakre, M.G., Lepourry, L., Davis, S.R., Mercier, J.C. & Vilotte, J.L. (1996). Efficient and specific ribozyme-mediated reduction of bovine α -lactalbumin expression in double transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, Vol. 93, S. 6698
- Lo, D., Pursel, V. Linton, P.J., Sandgren, E., Behringer, R., Rexroad, C., Palmiter, R.D. & Brinster, R.L. (1991). Expression of mouse IgA by transgenic mice, pigs and sheep. *European Journal of Immunology*, Vol. 21, S. 1001 – 1006.
- Maeschli, C. (1997). Risiko von Zoonosen bei Xenotransplantationen. *BATS (Hrsg.). Materialien zur Technikbewertung 1/98*, Dezember 97.
- Maga, E.M. & Murray, J.D. (1995). Mammary gland expression of transgenes and the potential for altering the properties of milk. *Bio/Technology*, Vol. 13, Dezember 1995, S. 1452.
- Martin, U., Kiessig, V., Blusch, J. H., Haverich, A., von der Heim, K., Herden, T. & Steinhoff, G. (1998). Expression of pig endogenous retrovirus by primary porcine endothelial cells and infection of human cells. *The Lancet*, Vol. 352, August 1998, S. 692.
- Massey, J.M. (1990). Animal production industry in the year 2000 A.D. *Journal Reprod. Fertil. Suppl.*, Vol. 41, S. 199 – 208.
- Meade, H. & Ziomek, C. (1998). Urine as a substitute for milk? *Nature Biotechnology*, Vol. 16, Januar 1998, S. 22.
- Mercier, J.-C. & Vilotte, J.-L. (1997). The modification of milk protein composition through transgenesis: progress and problems. In: Houdebine, L.M. (ed.), *Transgenic animals*. Harwood Academic Publishers, S. 475.
- Mercier, J.-C. & Vilotte, J.-L. (1997). The modification of milk protein composition through transgenesis: progress and problems. In: Houdebine, L.M. (ed.), *Transgenic animals*. Harwood Academic Publishers, S. 480.

- Mertens, C. (1996). Verbrauch und Bewilligungsverfahren von transgenen Tieren. *Oekoskop*, Nr. 3/96, S. 19.
- Miner, J. (1999). Plants with human genes about to be field-tested. *The London Free Press*, 14.6.99.
- Moffat, A. S. (1991). Transgenic animals may be down on the pharm. *Science*, Vol. 254, 4.10.91, S. 35.
- Müller, M. & Brem, G. (1994). Transgenic strategies to increase disease resistance in livestock. *Reproduction Fertility and Development*, Vol. 6, S. 605 – 613.
- Müller, M. & Brem, G. (1996). Intracellular, genetic or congenital immunisation – transgenic approaches to increase disease resistance of farm animals. *Journal of Biotechnology*, Vol. 44, S. 233 – 242.
- Müller, M., Brenig, B., Winnacker, E.-L. & Brem, G. (1992). Transgenic pigs carrying cDNA copies encoding the murine Mx1 protein which confers resistance to influenza virus infection. *Gene*, Vol. 121, S. 263 – 270.
- Murphy, F.A. (1996). The public health risk of animal organ and tissue transplantation into humans. *Science*, Vol. 273, 9.8.96, S. 746.
- Murray, J.D. & Maga, E.A. (1999). Changing the composition and properties of milk. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), *Transgenic animals in agriculture*. CAB International, S. 193.
- Murray, J.D., Nancarrow, C.D., Marshall, J.T., Hazelton, I.G. & Ward, K.A. (1989). The production of transgenic Merino sheep by microinjection of ovine metallothionein-ovine growth hormone fusion genes. *Reprod. Fert. Dev.*, Vol. 1, S. 147 – 155.
- N.N. (1999). Council of Europe votes to halt xenotransplantation. *Nature*, Vol. 397, 4.2.99, S. 380.
- N.N. (1999). US guidelines on xenotransplantation. *Nature Medicine*, Vol. 5, Nr. 5, Mai 1999, S. 465.
- N.N. (1999). California initiative to probe transgenics in large animals. *Nature*, Vol. 400, 26.8.99, S. 806.
- N.N. (1998). Phase II for pharming. *Nature Biotechnology*, Vol. 16, Dezember 1998, S. 1297.
- N.N. (1997). Got milk? Not like PPL's new variety. *Nature Biotechnology*, Vol. 15, März 1997, S. 204.
- N.N. (1997). Human hemoglobin from transgenic plants. *Nature Biotechnology*, Vol. 15, April 97, S. 304.
- Niemann, H. (1998). Transgenic farm animals get off the ground. *Transgenic Research*, Vol. 7, S. 73 – 75.
- Niemann, H., Hahn, J. & Marquardt, O.-W. (1996). Entwicklungsstand und Anwendungsperspektiven der Gentechnologie in der Tierproduktion. In: Sill, B. (Hrsg.), *Bio- und Gentechnologie in der Tierzucht*, Ulmer Verlag, Stuttgart, S. 56.
- Normile, D. (1998). Bid for better beef gives Japan a leg up on cattle. *Science*, Vol. 282, 11. Dezember 1998, S. 1975.
- Nottle, M.B., Nagashima, H., Verma, P.J., Du, Z.T., Grupen, C.G., McIlpatrick, S.M. Ashman, R.J., Harding, M.P., Giannakis, C., Wigley, P.L., Lyons, I.G., Harrison, D.T., Luxford, B.G., Campbell,

- R.G.m Crawford, R.J. & Robins, A.J. (1999). Production and analysis of transgenic pigs containing a metallothionein porcine growth hormone gene construct. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), *Transgenic animals in agriculture*. CAB International, S. 145 – 156.
- Ozil, J.P. (1983). Production of identical twins by bisection of blastocysts in the cow. *Journal of Reproduction and Fertility*, Vol. 69, S. 463 – 468.
- Palmer, K. E. (1998). Human clinical trials show effectiveness of transgenic plant-derived pharmaceuticals. *ISB News Report*, Juni 1998, S. 6.
- Palmiter, R.D., Brinster, R.L., Hammer, R.E., Trumbauer, M.E., Rosenfeld, M.G., Birnberg, N.C. et al. (1982). Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes. *Nature*, Vol. 300, S. 611 – 615.
- Paradis, K., Langford, G., Long, Z., Heneine, W., Sandstrom, P., Switzer, W. M., Chapman, L. E., Lockey, Ch., Onions, D., The XEN 111 Study Group & Otto, E. (1999). Search for cross-species transmission of porcine endogenous retrovirus in patients treated with living pig tissue. *Science*, Vol. 285, 20.8.99, S. 1236.
- Patience, C., Takeuchi, Y. & Weiss, R. A. (1997). Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pigs. *Nature Medicine*, Vol. 3, Nr. 3, März 1997, S. 282
- Pennisi, E.(1998). After Dolly, a pharming frenzy. *Science*, Vol. 279, 30. Januar 1998, S. 647.
- Petzoldt, U. (1998). Sag' niemals nie: Neues zum Klonen von Säugetieren. *Biologie in unserer Zeit*, Vol. 28, Nr. 4, S. 197.
- Pfister, Th. (1999). Skepsis bei der Ernährung - Zustimmung in der Medizin. *Schweizerische Handelszeitung*, 27.1.99.
- Pinkert, C.A. & Murray, J.D. (1999). Transgenic farm animals. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), *Transgenic animals in agriculture*. CAB International, S. 6.
- Polge, E.J.C., Barton, S.C., Surani, M.H.A., Miller, J.R., Wagner, T., Elsome, K., Davis, A.J., Goode, J.A., Foxroft, G.R.. & Heap, R.B. (1989). Induced expression of a bovine growth hormone construct in transgenic pigs. In: Heap, R.B., Prosser, C.G. & Lamming, G.E. (eds.), *Biotechnology of growth regulation*. Butterworths, S. 189 – 199.
- Postma, O. H., Stranzinger, G., Strijker, R. & Went, D. F. (1996). Transgenic dairy mammals. *Bulletin on the IDF 315*, Oktober 1996, S. 40.
- Powell, B.C., Walker, S.K., Bawden, C.S., Sivaprasad, A.V. & Rogers, G.E. (1994). Transgenic sheep and wool growth: Possibilities and current status. *Reproduction Fertility and Development*, Vol. 6, S. 621.
- Prakash, C. S. (1999). A plant-based vaccine against cancer. *ISB News Report*, März 1999, S. 6.
- Prakash, C. S. (1998). Engineered plants show promise as edible vaccine for diabetes. *ISB News Report*, März 1998, S. 4.
- Pursel, V.G. (1998). Modification of production traits. In: Clark, A.J. (Ed.), *Animal breeding. Technology for the 21st century*. Harwood Academic Publishers, S. 183 – 200.
- Pursel, V.G., Wall., R.J., Mitchell, A.D., Elsasser, T.H., Solomon, M.B., Coleman, M.E., DeMayo, F. & Schwartz, R.J. (1999). Expression of insulin-like growth factor-I in skeletal muscle of transgenic swine. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), *Transgenic animals in agriculture*. CAB International, S. 141.

- Pursel, V.G., Wall, R.J., Solomon, M.B., Bolt, D.J., Murray, J.D. & Ward, K.A. (1997). Transfer of an ovine metallothionein-ovine growth hormone fusion gene into swine. *Journal of Animal Science*, Vol. 75, S. 2208 – 2214.
- Pursel, V.G., Pinkert, C.A., Miller, K.F., Bolt, D.J., Campbell, R.G., Palmiter, R.D., Brinster, R.L. & Hammer, R.E. (1989). Genetic engineering of livestock. *Science*, Vol. 244, S. 1281 – 1288.
- Pursel, V.G., Rexroad, C.E., Bolt, D.J., Miller, K.F., Wall, R.J., Hammer, R.E., Pinkert, C.A., Palmiter, R.D. & Brinster, R.L. (1987). Progress on gene transfer in farm animals. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Vol. 17, S. 303 – 312.
- Renard, J.-P., Chastant, S., Chesné, P., Richard, C., Marchal, J., Cordonnier, N., Chavatte, P. & Vignon, X. (1999). Lymphoid hypoplasia and somatic cloning. *The Lancet*, Vol. 353, Nr. 9163, 1. Mai 1999, S.1489 – 91.
- Rexroad, C.E., Hammer, R.E., Bolt, D.J., Elsasser, T.H., Miller, K.F., Behringer, R.R. (1989). Production of transgenic sheep with growth relating genes. *Molecular Reproduction and Development*, Vol. 1, S. 164 – 169.
- Rexroad, C.E., Mayo, K.M., Bolt, D.J., Elsasser, T.H., Miller, K.F., Behringer, R.R., Palmiter, R.D. & Brinster, R.L. (1991). Transferrin- and albumin-directed expression of growth-related peptides in transgenic sheep. *Journal of Animal Science*, Vol. 69, S. 2995 – 3004.
- Robertson, D. (1997). „Gene“, another landmark in farmyard cloning. *Nature Biotechnology*, Vol. 15, September 1997, S.
- Roshlau, K., Rommel, P., Andreewa, L., Tackel, M., Roshlau, D., Zackel, B. et al. (1989). Gene transfer experiments in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*, Vol. 38, S. 153 – 160.
- Saegusa, A. (1998). Japan studies elevated cloning death. *Nature Biotechnology*, Vol. 16, November 1998, S. 992.
- Salter, D.W., Payne, W. Crittenden, L.B. & Fadly, A.M. (1998). Response of chickens carrying germline insert ALVA 11 to challenge with a field strain of subgroup A avian leukosis virus. *Avian Disease*, Vol. 42, Nr.4, S. 781 – 786.
- Salter, D.W. & Crittenden, L.B. (1989). Transgenic chickens: insertion of retroviral vectors into the chicken germline. *Theor. Appl. Genet*, Vol. 77, S. 457 – 461.
- SAMW (1999). Medizinisch-ethische Grundsätze zur Xenotransplantation. Stellungnahme der SAMW. Genehmigt am 3.6.99.
- Schnieke, A.E., Kind, A.J., Ritchie, W.A., Mycock, K., Scott, A.R., Ritchie, M., Wilmut, I., Colman & Campbell, K.H.S. (1997). Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts. *Science* Vol. 278, 19. Dezember, S. 2130.
- Seidel, G.E. Jr. (1999). The future of transgenic farm animals. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), *Transgenic animals in agriculture*. CAB International, S. 269.
- Selig, M. (1999). Gene Pharming: Billige und sichere Medikamente? *GID*, Nr. 132, April/Mai 1999, S. 12.
- Sharma, A., Martin, M. J., Okabe, J. F., Truglio, R. A., Dhanjal, N. K. Logan, J. S. & Kumar, R. (1994). An isologous porcine promotor permits high level expression of human hemoglobin in transgenic swine. *Bio/Technology*, Vol. 12, Januar 1994, S. 55.

Shiels, P.G., Kind, A.J., Campbell, K.H.S., Waddington, D., Wilmut, I., Colman, A. & Schniecke, A.E. (1999). Analysis of telomere lengths in cloned sheep. *Nature*, Vol. 399, 29. Mai 1999, S. 316 – 317.

Sitter-Liver, B. (1994). Würde der Kreatur. Grundlegung, Bedeutung und Funktion eines neuen Verfassungsprinzips. Unveröffentlichtes Manuskript, 25.9.1994, S. 21, zitiert in I. Praetorius & P. Saladin, *Die Würde der Kreatur*, 28.12.1994, S. 44.

Solomon, M.B., Pursel, V.G., Campbell, R.G. & Steele, N.C. (1997). Biotechnology for porcine products and its effect on meat products. *Food Chemistry*, Vol. 59, Nr. 4, S. 502.

Stice, S.L., Robl, J.M., Ponce de Léon, F.A., Jerry, J., Golueke, P.G., Cibelli, J.B. & Kane, J.J. (1998). Cloning: new breakthroughs leading to commercial opportunities. *Theriogenology*, Vol. 49, S. 129 – 138.

Stinnakre, M.G., Vilotte, J.L., Soulier, S. & Mercier, J.C. (1994). Creation and phenotyping analysis of α -lactalbumin-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, Vol. 91, S. 6544 – 2839.

Su, H.-Y., Jay, N.P., Gourley, T.S., Kay, G.W. & Damak, S. (1998). Wool production in transgenic sheep: results from first-generation adults and second generation lambs. *Animal Biotechnology*, Vol. 9, Nr. 2, *abstract*.

Trachsel, B. (1995). Ausbeutung und Verschleiss von Leben. In: Koechlin, F. & Ammann, D. (Hrsg.), *Morgen, Realotopia*, 1995, S. 200.

Visscher, P.M., van der Beck, S. & Haley, C.S. (1998). Marker assisted selection. In: Clark, A.J. (Ed.), *Animal breeding. Technology for the 21st century*. Harwood Academic Publishers, S. 119 – 136.

Vize, P.D., Michalska, A.E., Ashman, R., Lloyd, B., Stone, B.A., Quinn, P. et al. (1988). Introduction of a porcine growth hormone fusion gene into transgenic pigs promotes growth. *Journal of Cell Science*, Vol. 90, S. 295 – 300.

Wall, R.J. (1996). Transgenic livestock: progress and prospects for the future. *Theriogenology*, Vol. 45, S. 57 – 68.

Wall, R.J., Kerr, D.E. & Bondioli, K.R. (1997). Transgenic dairy cattle: genetic engineering on a large scale. *Journal of Dairy Science*, Vol. 80, S. 2213 – 2224;

Wall, R.J., Rexroad, C.E., Powell, A., Shamay, A., McKnight, R. & Hennighausen, L. (1996). Synthesis and secretion of the mouse acidic protein in transgenic sheep. *Transgenic Research*, Vol. 5, S. 67 – 72.

Wall, R.J., Kerr, D.E. & Bondioli, K.R. (1997). Transgenic dairy cattle: genetic engineering on a large scale. *Journal of Dairy Science*, Vol. 80, S. 2219

Wall, R.J. & Seidel, G.E., Jr. (1992). Transgenic farm animals – a critical analysis. *Theriogenology*, Vol. 38, S. 337 – 357.

Ward, K.A., Leish, Z., Brownlee, A.G., Bonsing, J., Nancarrow, C.D. & Brown, B.W. (1999). The utilization of bacterial genes to modify domestic animal biochemistry. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), *Transgenic animals in agriculture*. CAB International, S. 157 – 176.

Weidle, U.H., Lenz, H. & Brem, G. (1991). Genes encoding a mouse monoclonal antibody are expressed in transgenic mice, rabbits and pigs. *Gene*, Vol. 98, S. 185 – 191.

Weiss, R. A. (1999). Xenografts and retroviruses. *Science*, Vol. 285, 20.8.99, S. 1221.

- Wells et al. (1999). Production of cloned calves following nuclear transfer with cultured adult mural granulosa cells. *Biology of Reproduction*, Vol. 60, S. 996.
- Wells et al. (1997). Production of cloned lambs from an established embryonic cell line: a comparison between in vivo- and in vitro-maturated cytoplasts. *Biology of Reproduction*, Vol. 57, S. 385 – 393.
- Went, D. F. (1996). Molecular pharming. *Bio World* 3/96, S. 3.
- Westhusin, M. (1997). From mighty mice to mighty cows. *Nature Genetics*, Vol. 17, S. 4.
- Whitelaw, B. (1999). Toward designer milk. *Nature Biotechnology*, Vol. 17, Februar 1999, S. 135 – 136.
- Wieghart, M., Hoover, J.L, McGrane, M.M., Hanson, R.W., Rottman, F.M., Holtzman, S.H., Wagner, T.E. & Pinkert, C.A. (1990). Production of transgenic pigs harbouring a rat phosphoenolpyruvate carboxykinase-bovine growth hormone fusion gene. *Journal of Reproduction and Fertility*, Vol. 41, Supplement, S. 89 – 96.
- Willadsen, S.M. (1986) Nuclear transplantation in sheep embryos. *Nature*, Vol. 320, S. 63 – 65.
- Willadsen, S. M. (1981). The development capacity of blastomeres from 4- and 8-cell sheep embryos. *J. Embryol. Exp. Morph.*, Vol. 65, S. 165 – 172.
- Willard, H. F. (1998). Human artificial chromosomes coming into focus. *Nature Biotechnology*, Vol. 16, Mai 1998, S. 415.
- Wilmot, I. (1999). Klonen für medizinische Zwecke. *Spektrum der Wissenschaft* 4, April 1999, S. 34.
- Wilmot, I., Schnieke, E., McWhir, J., Kind, A.J., Colman, A. & Campbell, K.H.S. (1999). Nuclear transfer in the production of transgenic farm animals. In: Murray, J.D., Anderson, G.B., Oberbauer, A.M. & McGloughlin, M.M. (eds.), *Transgenic animals in agriculture*. CAB International, S. 67.
- Wilmot, I., Schnieke, A. E., McWhir, J., Kind, A. J. & Campbell, K.H.S. (1997). Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, Vol. 385, 27. Februar 1997, S. 810.
- Wilmot, I. & Whitelaw, C. B. A. (1994). Strategies for production of pharmaceutical proteins in milk. *Reprod. Fertil. Dev.*, Vol. 6, S. 625.
- Wolf, E., Zakhartchenko, V. & Brem, G. (1998). Nuclear transfer in mammals: recent development and future perspectives. *Journal of Biotechnology*, Vol. 65, S. 99 – 110.
- Wong, E. A. (1997). Edible plant vaccines. *ISB News Report*, Januar 1997, S. 7.
- Zakhartchenko, V., Durcova-Hills, G., Stojkovic, M., Scherthaner, W., Prella, K., Steinborn, R., Mueller, M., Brem, G. & Wolf, E (1999). Effects of serum starvation and re-cloning on the efficiency of nuclear transfer using bovine fetal fibroblasts. *Journal of Reproduction and Fertility*. Vol. 115, Nr. 2, S. 325-331.
- Ziomek, C. A. (1998). Commercialization of proteins produced in the mammary gland. *Theriogenology*, Vol. 49, S. 139.