

Tierbiotechnologie

Bearbeitet von
Hermann Geldermann

1. Aufl. 2005. Buch. 648 S. Hardcover
ISBN 978 3 8252 8283 7
Format (B x L): 17,3 x 24,5 cm

[Weitere Fachgebiete > Technik > Biotechnologie](#)

Zu [Inhaltsverzeichnis](#)

schnell und portofrei erhältlich bei

The logo for beck-shop.de features the text "beck-shop.de" in a bold, red, sans-serif font. Above the "i" in "shop" are three red dots of increasing size. Below the main text, the words "DIE FACHBUCHHANDLUNG" are written in a smaller, red, all-caps, sans-serif font.

beck-shop.de
DIE FACHBUCHHANDLUNG

Die Online-Fachbuchhandlung beck-shop.de ist spezialisiert auf Fachbücher, insbesondere Recht, Steuern und Wirtschaft. Im Sortiment finden Sie alle Medien (Bücher, Zeitschriften, CDs, eBooks, etc.) aller Verlage. Ergänzt wird das Programm durch Services wie Neuerscheinungsdienst oder Zusammenstellungen von Büchern zu Sonderpreisen. Der Shop führt mehr als 8 Millionen Produkte.



UTB 8283

Eine Arbeitsgemeinschaft der Verlage

Beltz Verlag Weinheim · Basel
Böhlau Verlag Köln · Weimar · Wien
Wilhelm Fink Verlag München
A. Francke Verlag Tübingen und Basel
Haupt Verlag Bern · Stuttgart · Wien
Lucius & Lucius Verlagsgesellschaft Stuttgart
Mohr Siebeck Tübingen
C. F. Müller Verlag Heidelberg
Ernst Reinhardt Verlag München und Basel
Ferdinand Schöningh Verlag Paderborn · München · Wien · Zürich
Eugen Ulmer Verlag Stuttgart
UVK Verlagsgesellschaft Konstanz
Vandenhoeck & Ruprecht Göttingen
Verlag Recht und Wirtschaft Frankfurt am Main
VS Verlag für Sozialwissenschaften Wiesbaden
WUV Facultas Wien

Hermann Geldermann

Tier-Biotechnologie

Unter Mitarbeit von

Heinz Bartenschlager, Jochen Gogol, Siegfried Preuß

Bertram Brenig (Kapitel 4, 11)

Mathias Büttner (Kapitel 31)

Georg Erhardt (Kapitel 26, 27)

Arno Henze (Kapitel 33)

Tosso Leeb (Kapitel 8, 10, 12)

Heiner Niemann (Kapitel 22)

Ernst Pfeffer (Kapitel 28, 29)

Karl Schellander (Kapitel 16–20)

Hans-Martin Seyfert (Kapitel 4–7)

Eckhard Wolf (Kapitel 21, 25, 32)

407 Farbzeichnungen

57 Fotos

115 Tabellen

Verlag Eugen Ulmer Stuttgart

Bibliografische Information der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN 3-8001-2814-4 (Ulmer)

ISBN 3-8252-8283-X (UTB)

Das Werk einschließlich aller seiner Teile ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung außerhalb der engen Grenzen des Urheberrechts ist ohne Zustimmung des Verlages unzulässig und strafbar. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

© 2005 Verlag Eugen Ulmer GmbH & Co.
Wollgrasweg 41, 70599 Stuttgart (Hohenheim)

E-Mail: info@ulmer.de

Internet: www.ulmer.de

Lektorat: Werner Baumeister

Herstellung: Otmar Schwerdt, Jürgen Sprengel

Satz und Typographie: Verlagsbüro Högerle, Horb-Rexingen

Druck und Bindung: Offizin Andersen Nexö, Zwenckau

Printed in Germany

ISBN 3-8252-8283-X (UTB-Bestellnummer)

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	9	4.3 Herstellung von cDNA	98
Mitarbeiter	10	4.4 Gelelektrophoretische Analysen und Präparationen von DNA-Molekülen	101
Einführung in die Tier-Biotechnologie ...	11	4.5 Charakterisierung von DNA durch Restriktionsspaltung	103
Teil I		4.6 Identitätsprüfung von DNA- oder RNA- Molekülen durch Hybridisierung ..	110
Zellkultur- und Bioverfahrenstechniken	23	4.7 Markierung von Nucleinsäuren	115
1 Kultivierung tierischer Zellen	25	5 Vermehrung von DNA-Molekülen durch Polymerasekettenreaktion (PCR)	117
1.1 Voraussetzungen für die Zellkul- tivierung	25	5.1 Prinzip der PCR-Reaktion	117
1.2 Eigenschaften von Zellen in Kultur .	30	5.2 Primerdesign	120
1.3 Handhabung tierischer Zellen in Kultur	34	5.3 Kontrolle der PCR-Produkte	121
1.4 Spezielle Verfahren der Zell- kultivierung	39	5.4 Fehlerquellen der PCR	121
2 Bioverfahrenstechniken für den Tierbereich	49	5.5 <i>Nested</i> -PCR	122
2.1 Teilbereiche der Bioverfahrens- techniken	50	5.6 <i>Hot-Start</i> - und <i>Touch-Down</i> -Tem- peraturprogramme	123
2.2 Beispiele für den Einsatz von Bio- verfahren im Tierbereich	55	5.7 Multiplex-PCR	123
Teil II		5.8 RT-PCR	123
Genomanalyse sowie gen- diagnostische Verfahren	61	5.9 Quantitative PCR	124
3 Struktur und Funktion von Genen .	63	5.10 Echtzeitregistrierung der PCR	126
3.1 Aufbau der Nucleinsäuren	65	5.11 Amplifikation von DNA-Bereichen mit nur einem locuspezifischen Primer	127
3.2 DNA-Replikation	66	6 Erzeugung und Klonierung rekombinanter DNA-Moleküle ...	133
3.3 Enzyme beim Nucleinsäurestoff- wechsel	69	6.1 Vektoren für den Transport und die Vermehrung von DNA-Fragmenten	133
3.4 Organisation der chromosomalen DNA	71	6.2 <i>In-vitro</i> -Rekombination von DNA- Fragmenten	139
3.5 Funktionseinheiten der Chromosomen	73	6.3 Transfer und Vermehrung von DNA- Molekülen in Bakterienzellen	141
3.6 Aufbau von Genen und ihren Produkten	74	6.4 Vermehrung und Aufbewahrung von Zellen mit rekombinanten DNA- Molekülen	143
3.7 Gewebe- und entwicklungsspezi- fische Kontrolle der Genexpression .	86	6.5 Biologische Sicherheit bei gen- technischen Arbeiten	149
3.8 Codierkapazität des Genoms	88	7 Identifikation von rekombinanten DNA-Molekülen in klonierten Wirtszellen	152
4 Präparation und Charakterisierung von Nucleinsäuren	93	7.1 Nachweis von Zellen, die rekombi- nante Vektoren-Moleküle enthalten (Markerselektion)	153
4.1 Extraktion und Reinigung von Nucleinsäuren	93		
4.2 Isolierung hochmolekularer genomischer DNA	96		

7.2	Nachweis von Zellen, die die gesuchte Fremd-DNA enthalten . . .	155	11.5	Präparation und Transfer von Chromosomen in Säugerzellen . . .	241
7.3	Identifikation von Genen auf der Basis der Translationsprodukte . . .	163	12 Genstruktur- und -funktionsanalysen	249	
7.4	Nutzung von Datenbanken für die Identifikation von Genen	164	12.1	Nachweis von Transkripten	249
8 Verfahren der DNA-Sequenzierung	165	12.2	Analyse der Transkriptstruktur	254	
8.1	Methoden der DNA-Sequenzierung	165	12.3	Analyse der Promotorbereiche	257
8.2	Strategien der Genomsequenzierung	173	13 Genomkartierung	269	
8.3	Sequenzierung von Teilabschnitten des Genoms	177	13.1	Marker für die Kartierung	271
8.4	Beiträge der DNA- und Genomsequenzierung in der Forschung . . .	178	13.2	Genetische Kartierung	272
9 DNA- und Protein-Arrays	180	13.3	Physikalische Kartierung	276	
9.1	Herstellung und Funktion von DNA-Arrays	180	13.4	Vergleichende Kartierung	290
9.2	Anwendung der DNA-Arrays	188	13.5	<i>QTL</i> -Kartierung	294
9.3	Protein-Arrays	192	13.6	Identifikation merkmalsbeeinflussender Nucleotidpositionen	299
9.4	Suspensions-Arrays	195	Teil III		
10 Darstellung von DNA-Varianten . .	198	Fortpflanzungsbiologische Verfahren	311		
10.1	Kettenabbruchreaktion und Pyrosequenzierung	199	14 Anatomisch-physiologische Grundlagen der Fortpflanzung . .	313	
10.2	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismen	202	14.1	Geschlechtszellenbildung	313
10.3	Konformationspolymorphismen . . .	204	14.2	Entwicklung von Geschlechts- und Zuchtstadien	316
10.4	Modifikation und Spaltung von Heteroduplex-DNA-Molekülen . . .	208	14.3	Geschlechtszyklus bei weiblichen Säugetieren	319
10.5	Allel-spezifische Amplifikation mittels PCR	211	14.4	Befruchtung und Embryonalentwicklung	321
10.6	Allel-spezifische Hybridisierungstechniken und Ligationsverfahren . .	215	15 Kryokonservierung von Zellen und frühembryonalen Stadien . .	325	
10.7	Massenspektrometrie	221	15.1	Einflussfaktoren auf die Kryokonservierung	325
10.8	Nachweis von <i>Variable Number of Tandem Repeats</i>	222	15.2	Minimierung von Zellschädigungen beim Gefrieren und Auftauen	326
10.9	Darstellung von DNA-Varianten mit Zufallsprimern	226	15.3	Kryokonservierung von Oocyten und frühembryonalen Stadien	328
10.10	Darstellung der DNA-Varianten für Screening und Diagnostik	228	15.4	Anwendungsbereiche der Kryokonservierung von Zellen und frühembryonalen Stadien	331
11 Megabasen-Analysetechniken und Künstliche Chromosomen	231	16 Künstliche Besamung	333		
11.1	Erzeugung und Selektion großer DNA-Fragmente	231	16.1	Vorteile und Risiken bei der Anwendung der Künstlichen Besamung . .	333
11.2	Verwendung von YAC-Vektoren . . .	232	16.2	Künstliche Besamung beim Rind . .	335
11.3	Verwendung von BAC-, P1- und PAC-Vektoren	236	16.3	Künstliche Besamung beim Schwein	341
11.4	Erstellung und Verwendung von Megabasen-Bibliotheken	237	16.4	Künstliche Besamung beim Pferd . .	343
			16.5	Stand der Künstlichen Besamung . .	344

17	Beeinflussung von Geschlechtsreife und -zyklus	347	22	Klonen von Tieren	387
17.1	Beeinflussung der Geschlechtsreife	347	22.1	Isolierung und Proliferation von embryonalen Zellen	388
17.2	Steuerung des Geschlechtszyklus	347	22.2	Mikrochirurgische Teilung von Embryonen	389
18	Gewinnung und Übertragung von Embryonen („Embryotransfer“) . .	351	22.3	Klonen durch Kerntransfer	391
18.1	Embryotransfer beim Rind	351	22.4	Anwendungsperspektiven des Klonens	399
18.2	Embryotransfer bei anderen Tierarten	356	22.5	Probleme bei der Anwendung des Klonens	403
18.3	Anwendungsbereiche, Probleme und Risiken des Embryotransfers	356	Teil IV		
18.4	Praktischer Einsatz des Embryotransfers	359	Mutagenese und Gentransfer	405	
19	<i>In-vitro</i>-Produktion von Embryonen	360	23	Erzeugung transgener Tiere	407
19.1	Eizellgewinnung	360	23.1	Zielsetzung bei der Erzeugung transgener Tiere	408
19.2	Auswahl der Eizellen	362	23.2	Strategien beim Gentransfer in Keimbahnzellen	410
19.3	<i>In-vitro</i> -Maturation (IVM) der Oocyten	363	23.3	Erstellung von DNA-Konstrukten für den Gentransfer	411
19.4	Auswahl der Vartiere und Vorbereitung der Spermien	364	23.4	Verfahren des Gentransfers	417
19.5	<i>In-vitro</i> -Fertilisation	364	23.5	Nachweisverfahren bei transgenen Tieren	431
19.6	Kultivierung und Übertragung der IVF-Embryonen	365	23.6	Bereitstellung und Behandlung der Tiere für den Gentransfer	436
19.7	Entwicklungsfähigkeit der IVF-Embryonen	365	24	Gentransfer in somatische Zellen .	441
19.8	Anwendung der <i>In-vitro</i> -Produktion von Embryonen	366	24.1	Einschleusen der DNA-Konstrukte in kultivierte Zellen oder Gewebe	442
20	Geschlechts- und Genotypanalysen bei Embryonen und Gameten . .	368	24.2	Strategien beim Gentransfer in Körperzellen	455
20.1	Art der pränatalen Diagnostik	368	24.3	Ausrichtung des Gentransfers auf bestimmte Zellen oder Gewebe	461
20.2	Analysen bei Gameten und Embryonen	372	24.4	Barrieren und Kinetik beim Gentransfer in Körperzellen	463
20.3	Geschlechtsdiagnosen bei frühembryonalen Entwicklungsstadien	375	24.5	Anwendungsbereiche für den Gentransfer in Körperzellen	465
20.4	Geschlechtsbestimmung durch Sortierung der X- und Y-Chromosom enthaltenden Spermien	376	25	Verfahren der Mutagenese beim Tier	474
20.5	Analyse züchterisch wichtiger Gene in Embryonen	379	25.1	Verwendung mutagener Agenzien	474
21	Erzeugung von Chimären	380	25.2	Messung der Mutationsraten	476
21.1	Verfahren zur Erzeugung von primären Chimären	381	25.3	Charakterisierung neuer mutierter Gene	479
21.2	Erzeugung sekundärer Chimären	384	25.4	Mutagenese und Mutantenanalyse mit Hilfe des Gentransfers	482
21.3	Anwendungsbereiche für die Generierung chimärer Individuen	384			

Teil V	
Einsatzbereiche und Auswirkungen biotechnischer Verfahren bei Tieren	483
26 Molekulare Gendiagnostik bei Nutztieren	485
26.1 Direkte und indirekte Gentests	485
26.2 Erbfehlerdiagnosen	486
26.3 Nachweis züchterisch vorteilhafter Genvarianten	494
27 Nutzung von DNA-Markern zur Kontrolle von Tieren und tierischen Produkten	508
27.1 Auswahl der DNA-Marker und des Probenmaterials	508
27.2 Fragestellung der Kontrolluntersuchungen	509
27.3 Beispiele für die Durchführung von Kontrollen mit DNA-Markern	511
27.4 Praktische Ausführung von Kontrolluntersuchungen	516
28 Verfahren zur Beurteilung des Leistungsstoffwechsels	517
28.1 Methoden zur Beurteilung der Stoffwechselkapazität und -regulation	517
28.2 Belastungstests	525
28.3 Verwendung von biochemisch-physiologischen Parametern für Rassenvergleiche	530
28.4 Selektionsexperimente mit Hilfe biochemisch-physiologischer Parameter	532
28.5 Biochemisch-physiologische Merkmale als Hilfsmittel für die züchterische Selektion	532
29 Bedeutung biotechnischer Verfahren für die Tierernährung	535
29.1 Gentechnisch veränderte Futtermittel	535
29.2 Herstellung von Einzelfuttermitteln und Zusatzstoffen mit biotechnischen Verfahren	539
29.3 Beeinflussung der Stoffwechselregulation bei Nutztieren	541
29.4 Weitere Aspekte zum Einsatz biotechnischer Verfahren in der Tierernährung	543
30 Einsatz biotechnischer Verfahren in Zuchtprogrammen	544
30.1 Einfluss biotechnischer Verfahren auf die Eigenschaften von Zuchtprodukten	546
30.2 Szenarien biotechnisch unterstützter Zuchtprogramme	546
31 Biotechnische Verfahren für den Nachweis und die Prophylaxe von Infektionserregern	561
31.1 Erregernachweise mit der humoralen und zellulären Immunreaktion	561
31.2 Nachweis von Eigenschaften des Erregers	562
31.3 Nachweis des Erregergenoms	564
31.4 Herstellung von Vakzinen	565
32 Anwendungsbereiche für transgene Tiere	571
32.1 Status bei verschiedenen Spezies	571
32.2 Beispiele für Anwendungsbereiche transgener Nutztiere	575
33 Gesetzliche Vorgaben für den Einsatz biotechnischer Verfahren bei Tieren	587
33.1 Gentechnikgesetz	587
33.2 Tierschutzgesetz	591
33.3 Tierzuchtgesetz	591
33.4 Gewerblicher Rechtsschutz	592
33.5 Lebensmittel- und Futtermittelrecht	594
34 Auswirkungen biotechnischer Neuerungen im Tierbereich	596
34.1 Auswirkungen biotechnischer Neuerungen auf die Wirtschaftlichkeit und Struktur der tierischen Erzeugung	596
34.2 Biologische Grenzen beim Einsatz biotechnischer Verfahren	598
34.3 Biologische Sicherheit beim Einsatz biotechnischer Verfahren	600
34.4 Ethische Fragen bei der Anwendung biotechnischer Verfahren	602
34.5 Fragen der öffentlichen Akzeptanz	606
Literatur	609
Register	630

Vorwort

Biotechnische Verfahren besitzen in der Tierwissenschaft seit langem einen zentralen Platz. Aus der DNA-Analytik, Gentechnik und Zellbiologie entstand jedoch während der letzten Jahre eine Vielfalt verschiedenartiger Methoden, die sich einem Überblick nur schwer erschließen und weiterhin in starker Entwicklung begriffen sind. Eine Verknüpfung der Teile zu einem geordneten Wissensgebiet war daher eine große Herausforderung für die hier vorgelegte Schrift! Das möglichst einfache Lehrbuch soll wichtige Sachverhalte von Grund auf erklären und alle erforderlichen Begriffe möglichst an Ort und Stelle definieren. Der Aufbau in 34 selbständigen Kapiteln hilft beim vertieften Studium einzelner Bereiche der Tier-Biotechnologie und vermittelt einen breiten Überblick. Gemeinsam mit denjenigen, die an diesem Werk mitgewirkt haben, hoffe ich, dass die Leserinnen und Leser in der von Fremdwörtern und Abkürzungen geprägten Kunstsprache ein zwar anspruchsvolles, aber zugleich faszinierendes Arbeitsgebiet kennen lernen.

Ich hatte die Mühen unterschätzt, die mit der Erstellung eines solchen Lehrbuches verbunden sind, und muss mehreren Personen für ihre Hilfe danken. Allen voran möchte ich mich bei den unter Mitarbeit genannten Kollegen bedanken, die mir Vorlagen für einzelne Kapitel zur Verfügung gestellt haben, Textentwürfe überprüften und großes Verständnis für die bei uns erfolgte mehrjährige Bearbeitung zeigten. Mein herzlicher Dank gilt Heinz Bartenschlager und Siegfried Preuß, die mit großem Einsatz und Talent Illustrationen geschaffen haben, die übersichtlich und einprägsam sind und dem Buch eine besondere ästhetische Dimension geben. Eine

entscheidende Unterstützung war Jochen Gogol bei den vielen Literaturrecherchen und Überarbeitungen der Texte. Unter den Mitarbeitern meines Institutes, die mir Fragen beantwortet und Texte korrigiert haben, möchte ich außerdem Tania Peischl, Andreas Kuss, Katja Herzog und Pal Francz ganz besonders danken. Christina Lex, Heinz Muth und Jürgen Butscher haben wesentliche Teile der Textfassung unterstützt. Einige Kollegen haben einzelne Kapitel des Buches kritisch durchgesehen und wertvolle Hinweise gegeben! Dies waren Uli Eisel (Universität Stuttgart), Michael Hinz (Universität Ulm), Eberhard Pfaff (BFAV Tübingen) und Rolf D. Schmid (Universität Stuttgart). Den Mitarbeitern des Ulmer-Verlages, insbesondere Werner Baumeister, Otmar Schwerdt, Jürgen Sprengel und dem Verlagsbüro Högerle, gilt mein Dank für die jederzeit gewährte Hilfe und großartige Leistung, die vielen Manuskripte in kurzer Zeit zu einem vorzüglich gestalteten Buch zusammengefasst zu haben.

Wenn trotzdem Unklarheiten und Fehler geblieben sind, so bin ich allein verantwortlich, bitte den Leser um Nachsicht und um Hinweise. Unter der Web-Adresse

www.uni-hohenheim.de/tzbiotech/AKTUELL

werden wir bemüht sein, Ergänzungen und Aktualisierungen für das Buch bereitzustellen.

Möge sich der Leitfaden als geeignet erweisen, Verständnis für die Tier-Biotechnologie zu wecken und zu einem vertieften Studium anregen.

Stuttgart, im Dezember 2004
Hermann Geldermann

Adressenverzeichnis

H. Bartenschlager, Fachgebiet Tierzüchtung und Biotechnologie, Universität Hohenheim, Garbenstr. 17, 70599 Stuttgart, e-mail: bartensc@uni-hohenheim.de

Prof. Dr. Dr. B. Brenig, Tierärztliches Institut, Lehrstuhl Molekularbiologie der Nutztiere, Georg-August-Universität Göttingen, Groner Landstraße 2, 37073 Göttingen, e-mail: bbrenig@gwdg.de

Prof. Dr. M. Büttner, Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Dienststelle Oberschleißheim, Veterinärstraße 2, 85764 Oberschleißheim, e-mail: mathias.buettner@lgl.bayern.de

Prof. Dr. G. Erhardt, Institut für Tierzucht und Haustiergenetik, Justus-Liebig-Universität Gießen, Ludwigstraße 21b, 35390 Gießen, e-mail: Georg.Erhardt@agrar.uni-giessen.de

Prof. Dr. H. Geldermann, Fachgebiet Tierzüchtung und Biotechnologie, Universität Hohenheim, Garbenstr. 17, 70599 Stuttgart, e-mail: tzunihoh@uni-hohenheim.de

Dr. J. Gogol, Fachgebiet Tierzüchtung und Biotechnologie, Universität Hohenheim, Garbenstr. 17, 70599 Stuttgart, e-mail: gogoljoc@uni-hohenheim.de

Prof. Dr. A. Henze, Institut für Agrarpolitik und Landwirtschaftliche Marktlehre, Universität Hohenheim, Schloß Osthof Ost, 70599 Stuttgart

Prof. Dr. T. Leeb, Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung, Tierärztliche Hochschule Hannover, Bünteweg 17p, 30599 Hannover, e-mail: Tosso.Leeb@tiho-hannover.de

Prof. Dr. H. Niemann, Institut für Tierzucht, Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Höltystrasse 10, 31535 Neustadt, e-mail: niemann@tzv.fal.de

Prof. Dr. E. Pfeffer, Institut für Tierernährung, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Endenicher Allee 15, 53115 Bonn, e-mail: epfe@itz.uni-bonn.de

Dr. S. Preuß, Fachgebiet Tierzüchtung und Biotechnologie, Universität Hohenheim, Garbenstr. 17, 70599 Stuttgart, e-mail: preuss@uni-hohenheim.de

Prof. Dr. K. Schellander, Institut für Tierzuchtwissenschaft, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Endenicher Allee 15, 53115 Bonn, e-mail: karl.schellander@audi.itz.uni-bonn.de

Prof. Dr. H.-M. Seyfert, Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere, Wilhelm-Stahl-Allee 2, 18196 Dummerstorf, e-mail: Seyfert@fbn-dummerstorf.de

Prof. Dr. E. Wolf, Lehrstuhl für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie, Genzentrum der Ludwig-Maximilians-Universität München, Feodor-Lynen-Straße 25, 81377 München, e-mail: ewolf@lmb.uni-muenchen.de

Einführung in die Tier-Biotechnologie

Das Lehrbuch der Tier-Biotechnologie wendet sich an Studenten, Wissenschaftler und Fachkräfte aus der Biotechnologie, Veterinärmedizin, Agrarwissenschaft und Biologie. Der Aufbau in 34 selbständige Kapitel, viele farbige Illustrationen und Angaben von Literaturquellen sollen einem vertieften Studium helfen, aber auch die Möglichkeit bieten, einzelne Buchteile getrennt benutzen zu können. Der Schwerpunkt der Ausführungen liegt in der Darstellung wichtiger biotechnischer Verfahren. Daneben werden Begriffe definiert, die historische Entwicklung aufgeführt, hauptsächliche Anwendungsgebiete verdeutlicht und einige Entwicklungsperspektiven genannt.

Etwa im Zeitintervall von 1975 bis 1980 entwickelte sich aus der Verknüpfung der DNA-Rekombinationstechnik mit der Mikrobiologie das Arbeitsgebiet der modernen Biotechnologie. Einige der Neuerungen erlangten bald eine große wirtschaftliche Bedeutung und stehen permanent im Blickpunkt der öffentlichen Aufmerksamkeit. Dafür lassen sich mehrere Beispiele aufzählen:

- Im Jahre 1988 führte in den USA die erstmalige Patentierung einer transgenen Maus, die als Modell für Krebserkrankungen dienen konnte („Harvard-Krebsmaus“), zu heftigen Kontroversen zwischen Ethikern, Tierschützern und Medizinern.
- Berichte über die erfolgreiche Klonierung des Schafes „Dolly“ wurden 1997 nicht nur in führenden wissenschaftlichen Journalen publiziert, sondern waren über Monate ein viel diskutierter Gegenstand der Tageszeitungen und des Fernsehens.
- Die Kultivierung von Stammzellen und neue Möglichkeiten der Gewebeübertragung zwischen Spezies (Xenotransplantation) leiteten einen internationalen Wettbewerb in der Grundlagenforschung ein, der im Jahre 2002 zu der Einrichtung einer speziellen Kommission auf Bundesebene geführt hat.

Definition des Begriffs Biotechnologie

Diejenigen, die in einem Wissensgebiet arbeiten, bedienen sich einer Fachsprache. Dies gilt auch für den Arbeitsbereich der Biotechnologie. Was ist Biotechnologie? Nur Gentechnik? Gehören dazu auch Arbeiten, wie das Schweinekastrieren oder die konventionelle Tierhaltung? Man wird sich wundern, aber der Begriff beinhaltet ursprünglich von allem etwas und hat für verschiedene Experten eine u. U. stark unterschiedliche Bedeutung.

Eine frühe Definition stammt von KARL EREKY (1919), Ungarn, der mit Biotechnologie alle Tätigkeitsbereiche meinte, in denen mit Hilfe von Lebewesen Produkte aus Rohmaterial hergestellt werden. Damals benutzte er als Beispiel sogar die Schweineproduktion. Biotechnologie ist im weiten Sinne also eine Produktion von Waren und Dienstleistungen durch Verfahren, bei denen Organismen, technische Systeme und Prozesse eingesetzt werden. Wie **Abb. 1** darstellt, führt der Arbeitsbereich Biotechnologie die Fachkenntnisse der Biologie, Chemie und

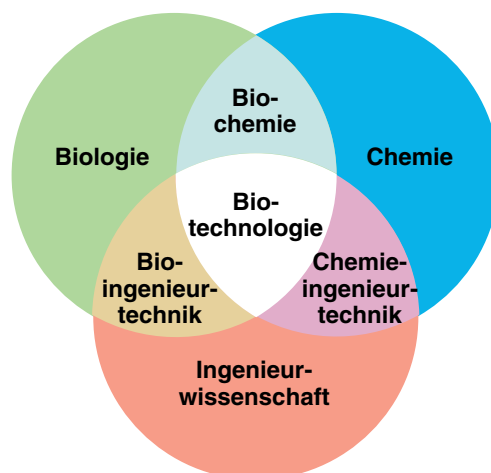


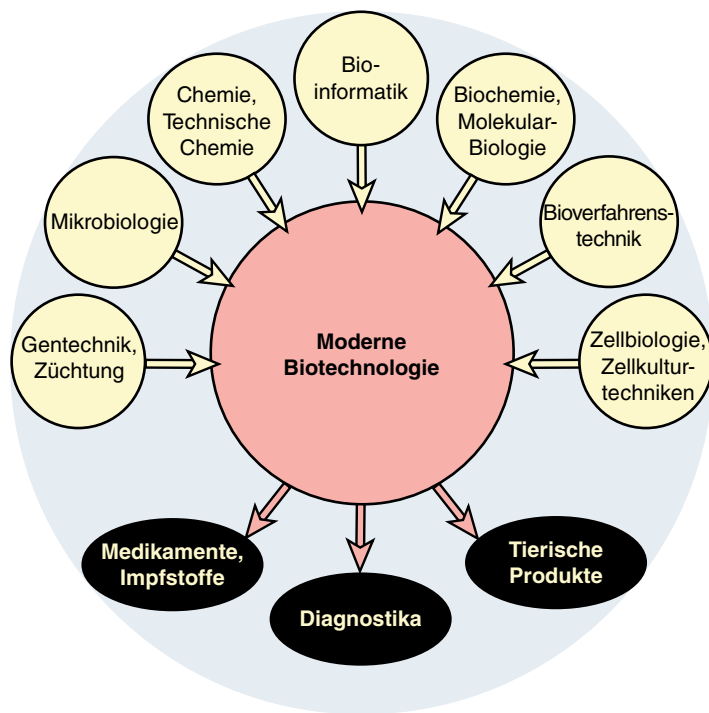
Abb. 1: Konventionelle (traditionelle) Biotechnologie als Kombination aus Biologie, Chemie und Ingenieurwissenschaft

Ingenieurwissenschaft zusammen und kombiniert diese zu einem neuen, biologisch orientierten Fach. Biotechnische Forschungen in der so definierten Ausrichtung fanden zunächst in chemischen und mikrobiologischen Bereichen statt. Hierbei handelte es sich aus heutiger Sicht um die **konventionelle** oder **traditionelle Biotechnologie**. Als übliche Definition der traditionellen Biotechnologie kann jede technische Nutzung biologischer Systeme für die Zwecke des Menschen gelten, also die Herstellung kommerzieller Produkte durch den Metabolismus lebender Organismen. Biotechnologie nach dieser Definition ist also der Einsatz oder die Nutzung lebender Organismen oder ihrer Bestandteile zur Herstellung, zur Modifikation oder zum Abbau von Substanzen.

Die traditionellen Verfahren zur genetischen Verbesserung der Zielorganismen waren jedoch umständlich, zeitaufwendig und teuer, insbesondere wenn es sich bei dem Gegenstand der Arbeiten nicht um Mikroorganismen, sondern um Pflanzen und Tiere handelte. Ab etwa 1970 änderten sich jedoch die Arbeitsweisen und Aufgabengebiete der Biotechnologie grundlegend durch den Einsatz der Gentechnik. Mit Hilfe der

Gentechnik konnten biotechnische Verfahren sehr effizient optimiert werden; sie lieferte Mittel, um Organismen zielgerichtet zu verändern, anstatt sie nur zu suchen und zu isolieren. Die Verschmelzung von Gentechnik (DNA-Analytik und -Rekombinationstechniken) mit traditioneller Biotechnologie schuf das Arbeitsfeld der modernen oder **molekularen Biotechnologie**. Wie **Abb. 2** im Schema zeigt, gehören hierzu u.a. die Zell-/Gewebekulturtechniken und Bioverfahrens-/Biotransformationstechniken. Im täglichen Sprachgebrauch werden allerdings die Begriffe Gentechnik und Biotechnologie oft synonym gebraucht, obwohl sie Unterschiedliches beschreiben. Mit dem erweiterten Methodenspektrum der modernen Biotechnologie können Organismen als "biologische Fabriken" zur Herstellung von heterologen Substanzen benutzt werden, wie z. B. Insulin, Interferon oder Wachstumshormon. Die DNA-Rekombinationstechniken eignen sich ebenfalls für den Einsatz bei Tieren, um neue oder veränderte Genprodukte herzustellen, neue Therapien für Krankheiten zu entwickeln oder diagnostische Systeme zu erweitern.

Abb. 2: Moderne Biotechnologie als Verschmelzung von Methoden und Erkenntnissen mehrerer Forschungsbereiche. Die verschiedenen Wissenschaftsdisziplinen werden zur modernen Biotechnologie verknüpft, um eine breite Palette von kommerziell nutzbaren Produkten zu entwickeln, wie u.a. Medikamente/Impfstoffe, Diagnostika und tierische Produkte.



Geschichtliche Entwicklung

Einige Angaben zur geschichtlichen Entwicklung sind der Zeittafel in **Tab. 1** zu entnehmen. Die Verwendung biotechnischer Verfahren geht sehr weit zurück, denn diese gehören zur menschlichen Kultur, seitdem der Mensch sess-

haft wurde und mit Ackerbau und Viehzucht begann. Der Mensch nutzt biotechnische Verfahren seit ca. 6000 Jahren. Beispielsweise wurden Hefestämme und Bakterien aus der Natur entnommen, um Brot, Bier, Wein, Joghurt und viele andere Lebensmittel herzustellen. Die Biotechnologie spielte schon immer eine wesentliche Rolle bei der Konservierung von Lebens-

Tab. 1: Zeittafel mit einigen biotechnischen Verfahren und Entwicklungen

- Prähistorische Biotechnologie -	
um 4000 v. Chr.	Bierbrauen
um 3000 v. Chr.	Hefeverwendung zum Brotbacken
um 3000 v. Chr.	Käseherstellung
- Traditionelle Biotechnologie -	
1780/85	Erfolgreiche Künstliche Besamung beim Hund (LAZZARO SPALLANZANI)
1887	JOKICHE TAKAMINE entwickelt bakterielle α -Amylase als technisches Enzym
um 1890	LOUIS PASTEUR und ROBERT KOCH entwickeln die ersten Vakzinen
1908	OTTO RÖHM setzt tierische Proteasen für Waschmittel und Lederhilfsmittel ein
1916	CHARLES WEIZMAN entwickelt einen Gärprozess zur Herstellung von Butanol und Aceton
1928/29	ALEXANDER FLEMING entdeckt das Penicillin
1942	Erste Besamungsstation in Deutschland (Pinneberg, Schleswig-Holstein)
1943	Penicillin wird in industriellen Mengen produziert
1960	Mikrobielle Proteasen werden Waschmitteln zugesetzt
1960	Meristemkultur bei Pflanzen (GEORGES G. MOREL)
1962	Klonierung durch Zellkernübertragung bei Amphibien (JOHN B. GURDON)
- Beginn der Gentechnik, d. h. moderne Biotechnologie -	
1965	Restriktionsenzyme (Restriktionsendonucleasen) werden entdeckt (WERNER ARBER)
1968	Erste <i>In-vitro</i> -Befruchtung beim Kaninchen und bei der Maus (M.C. CHANG, D.G. WITTINGHAM)
1970/73	Isolierung von Restriktionsenzymen und Verwendung rekombinierter Plasmidmoleküle; Herstellung des ersten gentechnisch veränderten Bakteriums (HERBERT BOYER und STANLEY COHEN)
1972	GOBIND KHORANA und Mitarbeiter synthetisieren ein vollständiges tRNA-Gen
1975	GEORGES KÖHLER und CESAR MILSTEIN stellen mit Hybridomazellen monoklonale Antikörper her
1976	Erste Richtlinien für die Gentechnik-Forschung (basierend auf Asimolar-Konferenz 1975)
1976/77	Entwicklung von Techniken zur Bestimmung der DNA-Sequenz (WALTER GILBERT, FREDERICK SANGER)
1977	Transfer des menschlichen Insulin-Gens auf ein Bakterium
1978	Fa. GENENTECH produziert Humaninsulin in <i>E. coli</i>
1980	Erste Patentierung von gentechnisch veränderten Mikroorganismen in den USA
1980	Gentransfer bei der Maus (JOHN W. GORDON, FRANK H. RUDDLE)
1981	Verkauf des ersten DNA-Sequenzierautomaten
1981	Erste embryonale Stammzell-Kulturen bei der Maus (G.R. MARTIN, M.J. EVANS, M.H. KAUFMAN)
1982	Genehmigung des ersten gentechnisch hergestellten Impfstoffes (gegen Aujeszky-Krankheit beim Schwein)
1983	Verwendung von gentechnisch veränderten TI-Plasmiden zur Transformation von Pflanzen
1983	Entwicklung der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) (KARY MULLIS)
1985	Veröffentlichung der Polymerasenkettenreaktions (PCR)-Methode (RANDALL K. SAIKI)
1985	Erste Gentransfers beim Nutztier (Schwein, Schaf)
1986	Erster Freilandversuch mit transgenen Pflanzen in Deutschland
1986	Klonierung durch Zellkernübertragung aus Embryonalzellen beim Schaf (STEEN WILLADSEN)
1988	Patentierung einer gentechnisch veränderten Maus, die anfällig gegen Krebs ist ("Krebsmaus")
1990	Klinische Erprobung der somatischen Gentherapie beim Menschen (USA)
1994	Zulassung von bovinem Somatotropin (bST), der Flavr-Savr-Tomate und herbizidresistenter Baumwolle in den USA
1996	Zulassung von transgenen Sojabohnen in Europa
1996	Erstes Genom eines höheren Organismus (Bierhefe) ist komplett sequenziert
1997	Erste Klonierung mit Zellkernen aus differenzierten Zellen beim Schaf (IAN WILMUT, K.H.S. CAMPBELL)
1999	Das <i>Drosophila</i> -Genom ist sequenziert.
2000	Sequenzierung des menschlichen Genoms abgeschlossen
2000/1	Therapeutisches Klonen von Stammzellen

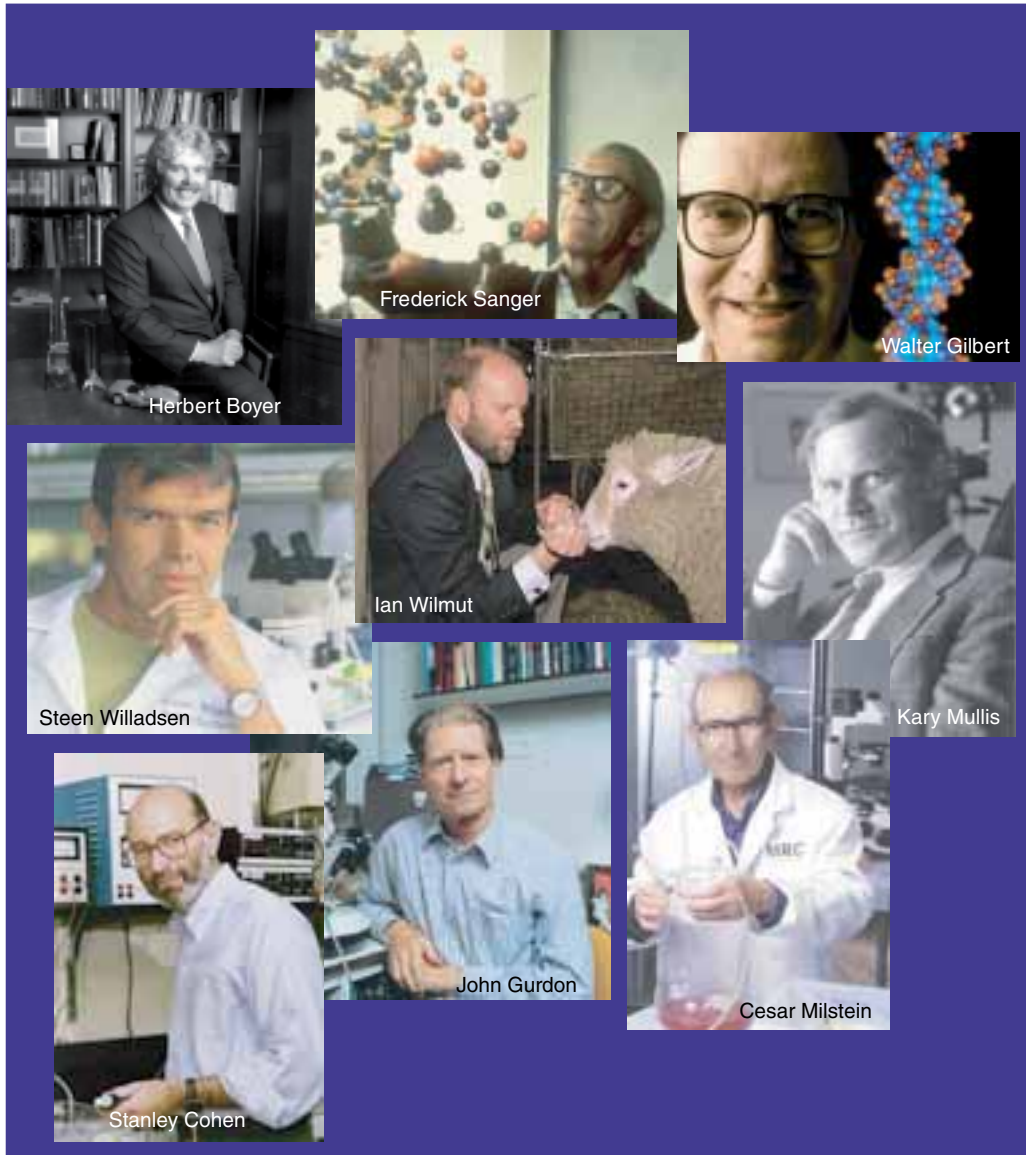


Abb. 3: Einige Pioniere der Biotechnologie

JOHN B. GURDON führte die erste Klonierung durch Zellkernübertragung beim Wirbeltier (Amphibien) durch (1962). HERBERT BOYER und STANLEY COHEN stellten rekombinante Plasmidmoleküle her (1970/73). CESAR MILSTEIN erarbeitete gemeinsam mit GEORGES KOHLER die Hybridoma-Methode zur Herstellung monoklonaler Antikörper (1975). ALAN MAXAM und WALTER GILBERT wie auch FREDERICK SANGER entwickelten die Techniken zur DNA-Sequenzierung (1976/77). Von KARY MULLIS und seiner Arbeitsgruppe stammt die Polymerasekettenreaktion (1983). Der dänische Veterinärmediziner STEEN WILLADSEN war ein Pionier der Reproduktionsbiologie, so auch bei der Klonierung (1986). IAN WILMUT aus Edinburgh (Schottland) ist mit dem geklonten Schaf Dolly zu sehen (1997).

mitteln. Sauerkraut und Dickmilch sind nichts anderes als Produkte der klassischen Biotechnologie. Gegenwärtig werden 30–40 % unserer Lebensmittel mit Hilfe biotechnischer Verfahren hergestellt.

Die moderne Biotechnologie nahm ihren Ausgang von der anwendungsorientierten Mikrobiologie im späten 19. Jahrhundert, als es gelang, Pathogene erfolgreich zu bekämpfen und die Antibiotikaherstellung industriell zu etablieren. Reproduktionsbiologische Verfahren, wie die instrumentelle oder Künstliche Besamung, werden seit etwa 1940 in der Tierzucht verwendet. Gentechnische Verfahren markieren den Beginn der modernen Biotechnologie, der sich etwa 1970/73 vollzog, nachdem WERNER ARBER und andere Wissenschaftler die Restriktionsenzyme entdeckt hatten. Patentierungen und die industrielle Nutzung der biotechnischen Verfahren spielen seit etwa 1980 eine Rolle und kennzeichnen den Einzug der Biotechnologie als Wirtschaftszweig. Die Arbeitsweisen waren neu und schienen mit starken Risiken behaftet zu sein, so dass es 1976 zu den ersten Richtlinien für das Verhalten in der Gentechnik-Forschung kam. Die 80er Jahre brachten mit der PCR-Technik (PCR, *Polymerase Chain Reaction*) und der DNA-Sequenzierung den Durchbruch zur effizienten Gentechnologie. Es folgten bahnbrechende Entwicklungen der Zellbiologie: Die erste Klonierung durch Zellkernübertragung aus Embryonalzellen wurde 1986 beim Schaf durch WILLADSEN vollzogen. 1997 berichteten WILMUT UND CAMPBELL über eine erste Klonierung mit Zellkernen aus differenzierten Zellen beim Schaf. Genomsequenzierungsprojekte bei höheren Organismen waren die großen Beiträge der 90er Jahre. Zunächst wurden die Genome von Modellorganismen, wie Mensch, Maus, Fadenwurm und Fruchtfliege, sequenziert. Im Jahre 2000 war die Sequenzierung des menschlichen Genoms fertig gestellt. Der Gentransfer beim Tier wird ab etwa 1990 in der Praxis eingesetzt. Wirtschaftlich lohnende Anwendungen des Klonens gibt es bei Säugetieren etwa ab 2000. Einige Pioniere der Biotechnologie werden in **Abb. 3** vorgestellt.

Methodische Grundlagen der modernen Biotechnologie

Drei Methodenbereiche bilden den Kern der modernen Biotechnologie: Bioverfahrenstechnik, Zellkultivierung und Gentechnik. Darüber hinaus spielt die Bioinformatik eine grundlegende Rolle. Im Einzelnen gibt es jedoch sehr zahlreiche Methoden, die sich aktuell in rascher Entwicklung befinden. Nachfolgend werden Hauptlinien der Methoden betrachtet, um einen ersten Überblick zum Fachgebiet zu erlangen.

Bioverfahrenstechniken

Bei den **Bioverfahrenstechniken** handelt es sich um die Biosynthese von spezifischen Substanzen und Naturstoffen aus Rohstoffen mit Hilfe biotechnischer Verfahren. Die im Allgemeinen industriellen Verfahren benutzen Mikroorganismen oder daraus isolierte Enzyme für die Herstellung eines kommerziellen Produktes und umfassen drei Schlüsselstadien (**Abb. 4**):

- **Vorbereitende Maßnahmen:** Vorbereitung des Rohmaterials, damit dieses als Nahrungsquelle für die Zielmikroorganismen eingesetzt werden kann.
- **Fermentation (Biotransformation, Biokonversion):** Nutzung der Mikroorganismen in Bioreaktoren, um die gewünschte Verbindung herzustellen.
- **Produktaufarbeitung:** Reinigung der gewünschten Substanz aus dem Zellmedium oder der Zellmasse.

Die Bioverfahrenstechniken betreffen also den gesamten Prozess der Erzeugung eines Zielproduktes, einschließlich der Rohstoffvorbereitung, der eigentlichen Reaktionsschritte der Stoffumwandlung und der sich anschließenden Produktaufarbeitung. Die Verfahren zur Stoffumwandlung und Produktherstellung laufen in weitgehend geschlossenen Anlagen mit Hilfe biologischer Agenzien (meist Zellen, Gewebe, Mikroorganismen, manchmal Enzyme) ab. Diese Anlagen werden als **Bioreaktoren (Fermenter)** bezeichnet. Einen Bioreaktor (siehe **Abb. 2.2**, S. 50) kann man sich ähnlich einem Dampfkochtopf vorstellen; er ist jedoch in der Regel größer und mit Zu- und Abfluss für Stoffe (flüssige und gasförmige) unter sterilen, tem-

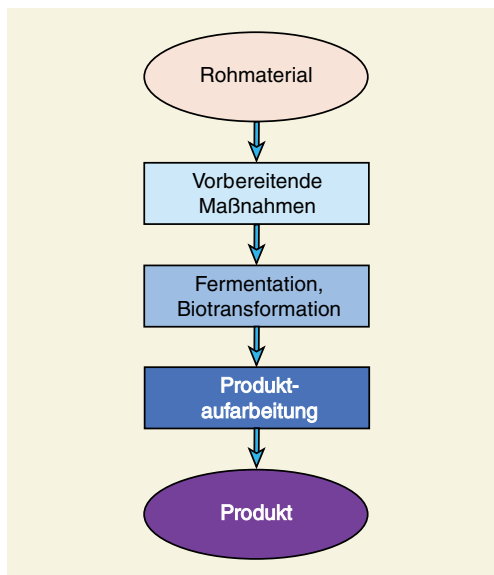


Abb. 4: Prinzip der Bioverfahrenstechniken

Herausgestellt werden die hauptsächlichen Schritte: Vorbereitende Maßnahmen (Vorbereitung des Rohmaterials, damit dieses als Nahrungsquelle für die Zielmikroorganismen eingesetzt werden kann), Fermentation/Biotransformation (Nutzung der Zielmikroorganismen, um die gewünschte Substanz herzustellen) sowie Produktaufarbeitung (Reinigung der gewünschten Substanz aus dem Zellmedium oder der Zellmasse)

peraturregulierten Bedingungen ausgestattet. Innen befindet sich im Allgemeinen ein Rührwerk. Rohmaterial und Mikroorganismen können gezielt zugesetzt werden. Entnommen wird das umgesetzte („verdaute“) Material, aus dem die jeweils weiter zu verwertende Substanz isoliert wird. Bioreaktoren sind oftmals großtechnische Anlagen mit aufwendiger Mess- und Regeltechnik, damit das in ihnen stattfindende Geschehen kontrolliert und optimiert ablaufen kann. Die biotechnische Forschung bei der Biokonversion beschäftigt sich mit der Maximierung der Effizienz eines jeden Schrittes und dem Auffinden von Mikroorganismen, deren Stoffwechselprodukte sich für den betrachteten Zweck bestmöglich eignen. Durch gentechnische Veränderung der Mikroorganismen kann oftmals die Produktion verbessert werden. **Abb. 5** zeigt als Beispiel transgene Bakterien, die in Einschlusskörpern ein Hormon angereichert haben.

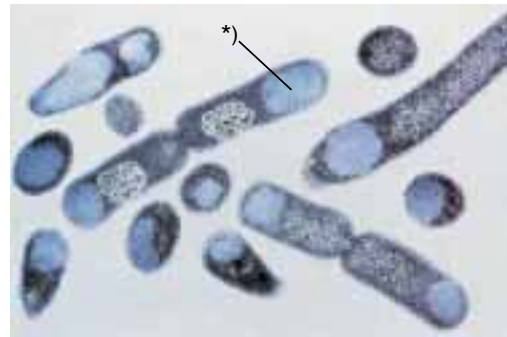


Abb. 5: Beispiel für die Expression und Akkumulation eines Produktes, das von einem Transgen exprimiert wird, in transgenen *E.-coli*-Zellen

*) Das heterologe Produkt wird in Einschlusskörper eingelagert und stark angereichert. Im Beispiel ist die Anreicherung von humanem Insulin zu sehen.

Beispiele für Einsatzbereiche der Bioverfahrenstechniken sind im Agrarbereich die Produktion von

- Lebensmittelzutaten, wie z. B. Enzyme, Proteine, Aminosäuren, Aromen, Vitamine, Hormone und Dickungsmittel, sowie
- Hilfsmitteln für die Tierproduktion und Veterinärmedizin, wie z. B. Antibiotika, Impfstoffe, Hormone und Futtermittelzusatzstoffe.

Zellkulturtechniken

Zell- und Gewebekulturtechniken beruhen auf der *In-vitro*-Kultivierung von Zellen oder Gewebeteilen und werden für viele Anwendungen benötigt. Zu diesem Zweck werden meistens einem Ausgangsorganismus geeignete Zellen entnommen und vereinzelt. Dann erfolgt eine Kultivierung von Zellen in Medien, in denen sie sich vermehren und ggf. differenzieren können. Von zentraler Bedeutung in der Biotechnologie ist die nachfolgende Regeneration von Geweben und Organismen. Kultivierte Zellen von Tieren können auch für die Biokonversion in Bioreaktoren benutzt werden und verweisen auf die Bedeutung der Verbindung zwischen Zellkultur- und Bioverfahrenstechnik (**Abb. 6**).

Zellkulturtechniken werden beispielsweise für die Gewinnung von Inhalts- und Wirkstoffen eingesetzt. Im Bereich der Nutztiere spielen

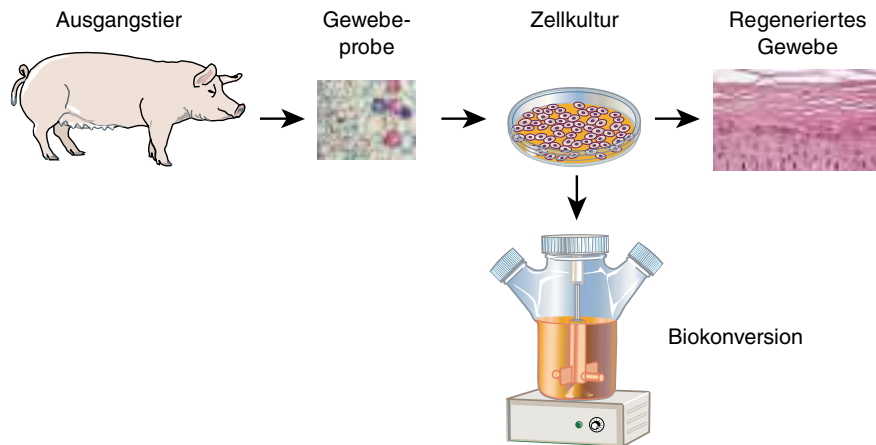


Abb. 6: Prinzip der Zellkulturtechniken am Beispiel von Tieren

Vom Spendertier werden Gewebeproben entnommen und aus diesen geeignete Zellen isoliert. Dann erfolgt eine Kultivierung von Zellen in Medien. Bei einigen Anwendungen (z.B. *In-vitro*-Fertilisation, Klonen) werden anschließend Gewebe oder sogar Tiere regeneriert. Kultivierte Zellen, auch solche von Tieren, können für die Biokonversion genutzt werden. Diese kann in Bioreaktoren vorgenommen werden und verbindet somit Zellkultur und Bioverfahrenstechnik.

zellbiologische Methoden eine Rolle bei der Isolierung und Konservierung von Keimzellen und frühembryonalen Entwicklungsstadien. Zellkultivierungen sind für seit langem wichtige Verfahren essenziell, wie der Künstlichen Besamung und dem Embryotransfer, sind aber auch Kernbereiche neuer Verfahren, wie z.B. der Geschlechtsdiagnose (Nachweis des Geschlechts frühembryonaler Stadien) und -bestimmung (Beeinflussung des Geschlechts von Nachkommen) sowie der Klonierung.

Gentechnische Verfahren

Gentechnische Verfahren, d.h. die experimentelle Handhabung von DNA sowie primären Genprodukten, sind ein zentraler Bestandteil der modernen Biotechnologie. Sie werden in DNA-Analytik und DNA-Rekombinationstechniken unterteilt. Mit der **DNA-Analytik** wird die Individualität eines DNA-Moleküls nachgewiesen. Eine solche Charakterisierung von Erbmaterial gelingt z.B. mit der DNA-Sequenzierung oder mit Restriktionsenzymen (sequenzspezifisch spaltenden Endonucleasen). Aus DNA-analytischen Arbeiten erwachsen die Möglichkeiten zur Genkartierung und -diagnose. Molekulargenetische Analyseverfahren spielen bei

der Überwachung von Lebensmitteln hinsichtlich Qualität, Hygiene oder gentechnischer Veränderung eine bedeutende Rolle. Auch bei der Prozesssteuerung (Überwachung der Produktionsverfahren) werden sie eingesetzt. **Abb. 7** zeigt, wie die DNA-Diagnostik die Möglichkeiten des Nachweises einzelner Moleküle enorm erweitert hat. Es wird erwartet, dass die Bedeutung der DNA-Analytik in Zukunft noch erheblich zunimmt.

Zu den **DNA-Rekombinationstechniken** (**Abb. 8**) gehören die Herstellung von *in vitro* rekombinierten DNA-Molekülen, deren Übertragung in Wirtszellen, die Vermehrung der DNA-Moleküle in den Wirtszellen, die Selektion erwünschter Moleküle sowie manchmal auch die Expression des transferierten Erbmaterials. Zur Rekombination mit den DNA-Fragmenten dienen z.B. Plasmide, die nachfolgend in Empfänger- oder Wirtszellen (z.B. Bakterienzellen) vermehrt werden. Die rekombinanten Vektormoleküle teilen sich gemeinsam mit den Zellen und lassen sich so vervielfältigen (amplifizieren, klonieren). Oft werden die neuen DNA-Fragmente auch zur Expression, d.h. Transkription, gebracht. Manchmal ist die Expression der neu eingeführten Gene das Ziel einer wirtschaftlichen Nutzung. Vielfach wird auch die rekomb-

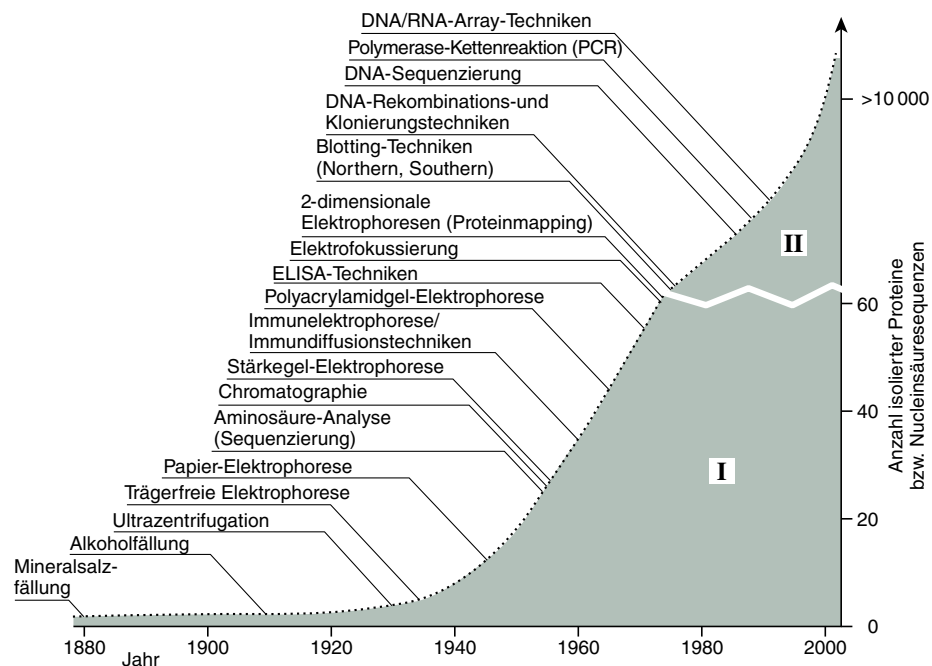


Abb. 7: Methodischer Fortschritt bei der Protein- und Nucleinsäureanalyse, dargestellt am Beispiel von Untersuchungen aus dem Blut

I Proteinanalysen

II Nucleinsäureanalysen

Die Analyse einzelner Genprodukte war anfangs auf Proteine begrenzt. Bis etwa 1970 waren damit weniger als 80 verschiedene Proteine aus dem Blut zu differenzieren. Die Zahl nahm rasch zu, nachdem DNA- und RNA-Moleküle elektrophoretisch aufgetrennt wurden und dann je nach ihrer Sequenz mit Sonden zu detektieren waren (*Southern-* bzw. *Northern-Blotting*). Eine weitergehende Analyse war möglich, indem die exprimierten mRNA-Moleküle in cDNA umgeschrieben und dann sequenziert werden konnten. Entscheidende weitere Techniken waren die DNA-Sequenzierung und die Polymerase-Kettenreaktion. Angaben zu den Proteinuntersuchungen von SCHWICK (1974) und GELDERMANN (1976).

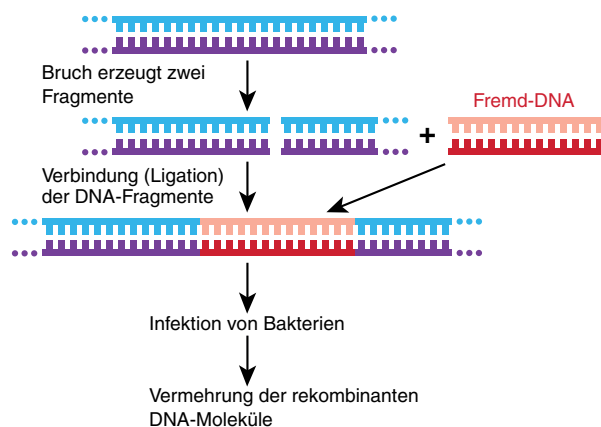


Abb. 8: Prinzip der DNA-Rekombination

Das doppelsträngige DNA-Molekül wird stark vereinfacht wie eine Strickleiter dargestellt. Mit bestimmten Enzymen können die DNA-Fäden an definierten Stellen gespalten werden. Ein anderes DNA-Molekül lässt sich an einer solchen Stelle einbauen. Damit ist aus zwei Ausgangsmolekülen ein neues Molekül entstanden: ein rekombiniertes oder rekombinantes Molekül. Dieses kann in Wirtszellen transferiert werden, damit es dort vermehrt wird.

binierte DNA in das Genom einer Empfängerzelle eingebaut, die schließlich in ein Tier übertragen wird. Die so entstehenden transgenen Tiere enthalten dann in ihren Zellen ein oder mehrere Stücke an Fremd-DNA (das Transgen). Die transferierte DNA soll im transgenen Organismus im Allgemeinen exprimiert werden, d.h. zu Genprodukten führen. Durch Gentransfer werden bestimmte Eigenschaften der Empfängerzellen oder des Empfängerorganismus beeinflusst oder in diesen neu eingeführt. DNA-Rekombinationstechniken werden auch eingesetzt, um Mikroorganismenstämme mit erwünschten Eigenschaften zu erstellen. Dies wird beispielsweise für die gentechnische Herstellung von Enzymen genutzt – sowohl im Bereich der Tierernährung als auch zunehmend bei der Be- und Verarbeitung nachwachsender Rohstoffe für chemisch-technische Zwecke.

Verfahren der Bioinformatik

Die Genomforschung erbringt eine Fülle an Daten, z.B. DNA-Sequenzen für Genome oder Angaben über die molekulare Struktur von Genprodukten. Beispiele der so genannten DNA-Sequenzdatenbanken werden in den **Abb. 8.9** und **8.10**, S. 175, vorgestellt und zeigen ein rasantes Anwachsen der Datenmengen. Doch wie bewältigt man diese enorme Datenfülle?

Die Auswertungen erfolgen in computergetragten Analysen, die in der Lage sind, Genom- und Genprodukt Daten zu verarbeiten und aus den Ausgangsdaten zu Modellierungen auf unterschiedlichem Niveau zu gelangen, d.h. die Methoden erlauben ein Speichern, Sichten und Interpretieren der Daten (**Abb. 9**). Die Methoden zur Bearbeitung von Genom- und Genprodukt Daten werden unter dem Begriff **Bioinformatik** zusammengefasst. Als **In-silico-Analyse** gilt allgemein die Bearbeitung biologischer Fragestellungen mit dem Computer. Fragestellungen für *In-silico*-Analysen in der Biotechnologie sind die

- Aufarbeitung von Rohdaten und Bereitstellung in Datenbanken;
- Anordnung von Sequenzen aus Teilstücken (*Shotgun*-Analysen);
- Suche nach ähnlichen Sequenzen in Sequenzdatenbanken und phylogenetische Analysen;
- Suche nach Genvarianten (Mutantenscreening);
- Identifizierung funktioneller Bereiche in der DNA und den Genprodukten (z.B. codierende und regulierende Genbereiche, Proteinfunktion);
- Analyse der Beziehungen zwischen Varianten in der Genstruktur und der Merkmalsausprägung (z.B. Kartierung von Geneffekten).

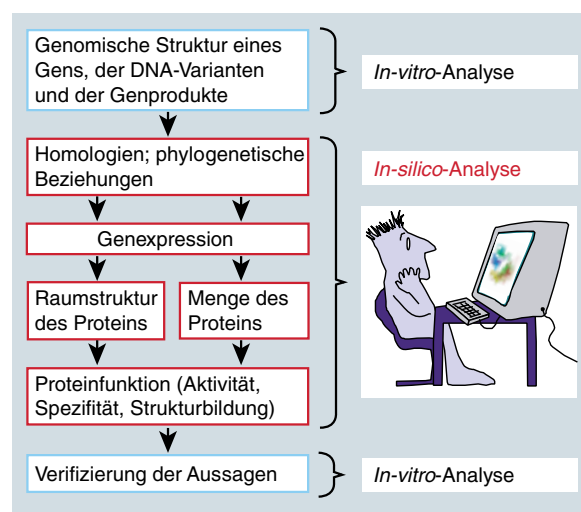


Abb. 9: Beiträge der *In-silico*-Analysen zur Genomforschung

Eigenschaften, Perspektiven und Anwendung biotechnischer Forschung

Das Potenzial der molekularen Biotechnologie wurde zu Beginn der Entwicklungen sehr hoch eingeschätzt und optimistisch geschildert. Man hatte Träume über zukünftige Entwicklungen, wie etwa die Beseitigung von Ölteppichen und der beliebigen Züchtung. Oft erwiesen sich die Vorhaben für den praktischen Einsatz als nicht realisierbar. Es gab eine nicht vorher gesehene, negative Einstellung der Öffentlichkeit und unterschiedliche ethische Einlassungen. Heute sehen wir, dass die Anziehungskraft der Gen-/Biotechnik begründet ist. Inzwischen sind manche Ziele schon erreicht worden, und andere stehen kurz vor der praktischen Anwendung.

Biotechnologie als Schlüssel- oder Zukunftstechnologie

Moderne biotechnische Verfahren sind da vorteilhaft, wo sie zur Leistungssteigerung, Kostensenkung, Qualitätsverbesserung, Herstellung neuer Produkte und Umweltschonung beitragen können. Biotechnologie gilt darüber hinaus aus folgenden Gründen als wichtige **Schlüssel- oder Zukunftstechnologie** des 21. Jahrhunderts:

- Der Biotechnologiebereich zeigt eine hohe **Innovationsdynamik**, d.h. es werden viele neue Ergebnisse pro Zeiteinheit erreicht. Aus den Erkenntnissen der Grundlagenforschung über die Funktionsmechanismen biologischer Systeme ergeben sich oft unmittelbar die Möglichkeiten vieler praktischer Anwendungen. Gentechnische Forschungen besitzen vorteilhafte Eigenschaften der genauen Darlegung, der präzisen Wiederholbarkeit und der direkten Speicherbarkeit auf Datenträger. Die Innovationsdynamik führt allerdings auch dazu, dass gewonnene Erkenntnisse und entwickelte Techniken u. U. schnell durch neue Entwicklungen überholt werden können. Beispiele für weit reichende Innovationen im Tierbereich sind die Reproduktionstechniken (Künstliche Besamung, Embryotransfer, *In-vitro*-Fertilisation, Klonierung) und die Gendiagnostik.
- Bei technisch-wissenschaftlicher Betrachtung ist die Biotechnologie eine typische **Quer-**

schnittstechnologie, da sie eine Vielzahl von Wissens- und Wirtschaftsbereichen erfasst, wie u.a. solche in der Chemie, Biologie, Informationstechnik, Medizin, Landwirtschaft, Ernährungswissenschaft und dem Umweltschutz. Die Biotechnologie spielt sogar in Bereichen eine tragende Rolle, wo man dies nicht sofort erwarten würde, wie z.B. in der Archäologie und der Kriminalistik.

- Die Anwendungsbereiche der Biotechnologie entwickeln eine erhebliche, sich rasch verstärkende **wirtschaftliche Bedeutung**. Von den Neuerungen sind viele auch zu nutzen und stellen eine große wirtschaftliche Chance dar. Beispielsweise kletterte der Anteil gentechnisch hergestellter Arzneimittel (rekombinante Arzneimittel) weltweit von ca. 1 % in 1985 auf über 8 % in 2002 (GENTECHNIK, VFA 2004).

Welche Bedeutung beispielsweise die Gensuche und der Einsatz neuer Gene für die wirtschaftliche Anwendung spielt, ließ sich im Oktober 1980 erkennen, als der Aktienkurs der Biotechnologiefirma GENENTECH an der Börse in New York innerhalb von nur 20 min von 35 auf 89 Dollar anstieg. Was war geschehen? – Der Firma GENENTECH war es gelungen, das Gen für Insulin *in vitro* zu synthetisieren und für die Hormonsynthese in Bakterien zu verwenden. Bis zu dem Zeitpunkt konnte man Insulin nur aus Schlachtschweinen und -rindern isolieren, mit der Problematik der Verunreinigungen, Nebenwirkungen und hohen Kosten. Gentechnisch war Insulin mit wenigen Prozent der bis dahin üblichen Kosten zu erstellen. Inzwischen ließ sich der wirtschaftliche Nutzen der Biotechnologie vielfältig beweisen und hat zu einer eigenen Industrie geführt. Die Biotechnologie spielt neben der Mikroelektronik, Nanotechnologie und Informatik schon heute in vielen Bereichen eine entscheidende Rolle. Traditionelle Anwendungsgebiete der Biotechnologie liegen in der Medizin (Diagnostika, Medikamente, Therapie), Industrie sowie Land- und Ernährungswirtschaft. Im Landwirtschafts- und Ernährungsbereich wurde im letzten Jahrzehnt eine Vielzahl neuer Biotechniken entwickelt, die gegenwärtig in die Anwendung gelangen.

Schwerpunkte der Entwicklungen in der Tier-Biotechnologie

Die Entwicklungen in der Tier-Biotechnologie beziehen sich auf sehr verschiedene Methodenfelder. Zur **Genomanalyse und Gendiagnostik** gehören bei Nutztieren insbesondere die Genomkartierung, DNA-Marker-Forschung und Kandidatengen-Analyse. Die Ergebnisse der aufwendigen Entwicklungsarbeiten führen unmittelbar zu einer starken internationalen Verwendung in der Diagnostik und der Züchtung. Die Schwerpunkte der biotechnischen Forschung in der **Fortpflanzungsbiologie** liegen bei der Künstlichen Besamung, dem Embryotransfer, der *In-vitro*-Fertilisation, der Embryodiagnostik und dem Klonen. Fortpflanzungsbiologische Verfahren sind speziell beim Rind weit entwickelt. Für die Zukunft werden weitere Optimierungen bestehender sowie die Entwicklung neuer Methoden erwartet. An der Erzeugung **transgener Tiere** wird vor allem in den USA, Japan, China, Russland und Australien gearbeitet, während in Europa die geringe öffentliche Akzeptanz und gesetzliche Auflagen den Fortschritt stark behindert haben. Mit dem Gentransfer bei Tieren stellen sich grundlegende ethische Fragen zu den Grenzen einer Anwendung biotechnischer Verfahren. Der Gentransfer bei Nutztieren bedarf der weiteren methodischen Grundlagenforschung, während es für die transgene Maus als Modelltier bereits viele wichtige Anwendungen gibt.

Die **biotechnische Anwendung** bezieht sich bei **Nutztieren** vor allem auf vier Bereiche. Infektionskrankheiten stellen ein Hauptproblem für die **Tiergesundheit** dar und haben eine große Bedeutung für die Wirtschaftlichkeit der Tierproduktion, den Tierschutz und die Qualität tierischer Produkte. Wesentliche Ziele der molekulargenetischen Analyse von Tierkrankheiten sind die gentechnische Herstellung effektiver Diagnostika, Therapeutika (Arzneimittel) oder Prophylaktika (insbesondere Impfstoffe). Im Bereich der Tiergesundheit sind gentechnisch hergestellte Produkte bereits wichtige Alternativen oder Ergänzungen zu konventionellen Präparaten. Demgegenüber haben transgene widerstandsfähige Nutztiere noch keine Bedeutung, obgleich technische Ansätze erkennbar sind. In der **Tiernahrung** gewinnen gentechnisch er-

zeugte Enzyme zur Verbesserung der Futterverwertung und zur Umweltentlastung an Bedeutung. Außerdem werden gentechnisch veränderte Mikroorganismen zur Futterkonservierung eingesetzt. Rekombinante Produktionshilfsmittel sind in zahlreichen Ländern zugelassen. Für eine Verbesserung der **Qualität tierischer Produkte** gibt es vielversprechende Ansatzpunkte. Die Veränderung der Milchezusammensetzung für Ernährungszwecke mit Hilfe transgener Tiere scheiterte jedoch bislang an der mangelnden Verbraucherakzeptanz. Gleiches gilt auch für den Einsatz biotechnisch erzeugter Hormone (z. B. bovines Somatotropin, bST). Dagegen zeigen sich große Potenziale für die Gendiagnose und Selektion auf der Basis von Genotypen für leistungswichtige Gene. Bei der **Nutzung von Tieren für medizinische Zwecke** spielt das *Gene Farming* (*Drug Farming* oder *Bio Pharming*) eine gewisse Rolle. Insbesondere wird die Milchdrüse zur Erzeugung pharmazeutisch wirksamer Proteine verwendet. Außerdem wird daran gearbeitet, tierische Gewebe/Organe so zu beeinflussen, dass sie auf den Menschen übertragen werden können (Xenotransplantation). Hinsichtlich der wirtschaftlichen Aussichten stehen die Verfahren im Wettbewerb mit den Zellkultur- und Bioreaktortechniken.