

# Gentechnologie und Veterinärmedizin [Fortsetzung]

Autor(en): **Hübscher, Ulrich**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **129 (1987)**

PDF erstellt am: **25.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-593219>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

## Gentechnologie und Veterinärmedizin

### II. Gentechnologisch hergestellte Vakzinen und Analyse hochvariabler DNA-Abschnitte

*Ulrich Hübscher<sup>1</sup>*

Eine Untersuchungskommission, die im Auftrage des deutschen Bundestages zu Chancen und Risiken der Gentechnologie einen 400seitigen Bericht abfasste [1], stellte folgende Anwendungsbereiche in Aussicht: (A) Biologische Stoffumwandlung und Rohstoffversorgung, (B) Pflanzenproduktion, (C) Tierproduktion, (D) Umwelt, (E) Gesundheit und (F) Humangenetik (Genomanalyse und Gentherapie). Es ist ausserhalb der Reichweite einiger einführender Artikel, all diese Gebiete auch nur zusammenzufassen. Nachdem in einem ersten Artikel generelle Prinzipien der Gentechnologie sowie einige Anwendungsgebiete für die Tiermedizin aufgezeigt wurden [2], soll im folgenden ausschliesslich auf die Problematik der Tierproduktion und der Tiergesundheit eingegangen werden. Als Auswahl werden in diesem Artikel die Fragen der gentechnologisch hergestellten Tiervakzinen sowie die Analysen hochvariabler DNA-Sequenzen näher erläutert. In einem dritten Artikel wird auf die Möglichkeiten der transgenen Tiere näher eingegangen.

#### A. Gentechnologisch hergestellte Vakzinen

Als erstes müssen wir uns fragen, ob die mit den bisherigen konventionellen Mitteln hergestellten Vakzinen nach neuen Methoden rufen. Dies kann aus mehreren Gründen bejaht werden (siehe Zitat 3 als Übersichtsarbeit dazu):

- (A) Nicht selten sind die Vakzinen, die durch Attenuierung und Inaktivierung hergestellt werden, bei vielen Krankheiten nicht gut oder überhaupt nicht wirksam. Dazu gehören viele Parasitosen oder viele Krankheiten, die durch Retro- und Herpesviren verursacht werden.
- (B) Der Gebrauch von «Ganzagsvakzinen» kann zu Komplikationen führen, wie akuten Infektionen oder langsam sich entwickelnde progressive Krankheiten bei immungeschwächten Individuen.
- (C) Es besteht die Möglichkeit, dass anscheinend avirulente Stämme zur Virulenz rückmutieren.
- (D) Gewisse attenuierte Viren können sich im Genom von Tieren etablieren, was eine anschliessende Antwort auf Vakzinationen unsicher machen kann.

---

<sup>1</sup> Dr. U. Hübscher, Universität Zürich-Irchel, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

- (E) Durch unsachgemässe Inaktivierung oder durch irrtümliche Verbreitung von Viren können Infektionen ausgelöst werden. Beispielsweise werden 44% der Maul- und Klauenseucheausbrüche in Europa zwischen 1968 und 1981 auf diese Tatsache zurückgeführt [4].
- (F) Nicht selten werden postvakzinale pyrogene und allergische Reaktionen beobachtet.

### *Möglichkeiten für die Entwicklung neuer Vakzinen*

Viele Viren, Bakterien und Parasiten besitzen an ihrer Oberfläche Proteine, die auch nach ihrer Herauslösung aus dem Organismus noch vollständige Antigenität aufweisen. Solche Antigene sind vielversprechende Kandidaten für sogenannte «Subunit»-Vakzinen. Obwohl die Entwicklung solcher Teilvakzinen noch sehr jung ist und sich noch in Entwicklung befindet, erwartet man bald Ersatz für Ganzvakzinen. Um *grosse Mengen solcher Proteine* herzustellen sind folgende *Möglichkeiten* vorhanden: (A) die gentechnologische Herstellung immunogener Oberflächenproteine, (B) die chemische Synthese von Polypeptidvakzinen, (C) die Konstruktion von rekombinanten Viren, die als Passagiergene ein fremdes Oberflächenantigen tragen und (D) die gentechnologische Herstellung von nicht pathogenen mutierten oder deletierten Agentien.

Die Klonierung und die Produktion von Oberflächenantigenen in *bakteriellen «Proteinsynthesefabriken»* steht im Vordergrund bei der Produktion neuer Vakzinen. Auf sie wird in den nächsten Abschnitten näher eingegangen. Die Entwicklung der gentechnologischen Methoden hat aber auch noch mindestens die drei oben erwähnten zusätzlichen Möglichkeiten eröffnet.

Das Herstellen *synthetischer Polypeptide* wurde durch das Entwickeln verfeinerter Chromatographie- und Elektrophoresetechniken, automatisierten Polypeptid- und Oligonukleotid-(DNA)Syntheseapparaturen, durch DNA-Sequenzierung nach Klonierung, durch hochsensible Radioimmunomessmethoden sowie durch genaue Lokalisierung von Epitopen mittels monoklonaler Antikörper ermöglicht.

In den letzten Jahren hat sich das Vakziniavirus als vielversprechendes Modell zur Konstruktion eines *rekombinierten Virus* erwiesen. Das Vakziniavirus eignet sich als Rekombinante, da es im Gegensatz zu anderen Virus-Vektoren wie zum Beispiel Simian Virus 40 oder Adenovirus keine Zellen transformiert und auch nicht krebserrregend ist [3]. Im weiteren ist das DNA-Genom sehr gross (187 000 Basenpaare) und kann deshalb bis 25 000 Basenpaare «fremde» DNA aufnehmen [5]. Oberflächenantigene der Infektionserreger von Hepatitis B, Herpes simplex, Influenza, transmissibler Gastroenteritis und Malaria sind einige Beispiele erfolgreicher durchgeführter rekombinanter Vakziniaviren.

Die Herstellung *nicht-pathogener Agentien*, die ihre immunogenen Eigenschaften behalten, ist eine weitere Möglichkeit. Dabei wird ein Gen, von dem man weiss, dass es für die Pathogenität verantwortlich ist, mutiert oder deletiert. Als Beispiele seien Gene für bakterielle Toxine (Salmonellen) oder für Adhäsionsfaktoren (*E. coli* K 88 und K 99) erwähnt.

Tabelle 1: Gentechnologisch hergestellte Antigene einiger viraler Erkrankungen

Virus/Krankheit	Wirt	kloniertes Antigen	Autoren
Bovines Papilloma	Rind	L1 und L2 Gene	7
Infektiöse Bovine Rhinotracheitis (IBR)	Rind	Glykoproteine	8
Aujeszky	Schwein	Glykoproteine	9
Parvo	Katze, Schwein	Kapsidproteine	10
Rota	Rind	Virus Protein 7.2	11
Maul- und Klauenseuche	Rind, Schwein	Virus Protein 1	12
Transmissible Gastro-Enteritis	Schwein	Glykoprotein	13
Infektiöse Bronchitis	Huhn	«Spike»-Protein	14
Staupe	Hund	H Matrix Protein	15
Tollwut	Mensch, Haustiere	Glykoprotein G	17
Vesikuläre Stomatitis	Rind	Glykoprotein G	16
Feline Leukämie	Katze	Hüllprotein ( <i>env</i> )	18
Bovine Leukämie	Rind	Glykoprotein	19
Hepatitis	Ente	Hepatitis B Oberflächenantigen	20

### *Einige gentechnologisch hergestellte Antigene tierischer Krankheiten*

Die Klonisierungsarbeiten von Antigenen einiger wichtiger Virusproteinenerkrankungen bei Tieren sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Es fällt auf, dass es sich um Proteine handelt, die an der Oberfläche der Viren vorkommen. Vielfach sind es Glykoproteine, also Proteine, die an Zuckerreste gekoppelt sind. Da Bakterien die gentechnologisch eingeschleusten Proteine meistens nicht oder nicht richtig glycosylieren können, braucht man heute als Trägerzellen vielfach Hefe- oder Säugetierzellen, die beide in Kultur gezüchtet werden können [6]. Die Maul- und Klauenseuche-Vakzine war 1981 die erste durch gentechnologische Methode hergestellte Vakzine überhaupt [12].

In Tabelle 2 sind einige Beispiele klonierter und in *E. coli* zur Synthese gebrachter bakterieller und parasitärer Erreger aufgeführt. Als bisher erfolgreichstes Beispiel gilt die Herstellung einer Vakzine gegen die Colienterotoxämie des Schweines [21]. Ein apathogener *E. coli*-Stamm, der das klonierte K 99-Genprodukt (ein Adhäsionsfaktor) stark überproduzierte, (siehe erster Artikel für experimentelle Details, Zitat 2) wurde isoliert und Muttersauen eingepflegt. Diese produzierten Antikörper gegen den K 99-Adhäsionsfaktor. Die Sauen waren gegen eine Infektion mit Enterotoxämiebakterien immun, da die Adhäsion verhindert werden konnte. Im weiteren wiesen die Ferkel solcher Muttersauen eine 10–20% geringere Mortalität als die Kontrollgruppe auf. Bei erkrankten Ferkeln schliesslich war der Krankheitsverlauf milder und die Dauer kürzer [21].

Bei parasitären Krankheiten fällt auf, dass die Wahl der Antigene stark unterschiedlich ist. Bei der Trichinose beispielsweise wurde ein Antigen aus einer Muskel-Larve [23] verwendet, bei verschiedenen Plasmodien mehrere Oberflächenantigene unterschiedlicher Entwicklungsstadien (vergleiche Zitate 25 und 26) und bei den blutsaugenden Hakenwürmern ein Gen für ein proteolytisches Enzym [27]. Beim letzten Bei-

Tabelle 2: Gentechnologisch hergestellte Antigene einiger bakterieller und parasitärer Erkrankungen von Tieren.

Infektiöses Agens/Krankheit	Wirt	kloniertes Antigen	Autoren
Escherichia coli (Colienterotoxämie)	Schwein Rind, Schaf Schwein	K 88; 987 P K 99	21
Bacillus anthracis	Mensch, Rind	Toxin	22
Trichinella spiralis	Mensch, Schwein	Antigen aus Muskellarven	23
Kokzidiose	Geflügel	Oberflächenantigen	24
Plasmodium knowlesi	Mensch, Maus (Tiermodell für die menschliche Malaria)	Sporoziten- Oberflächenprotein	25
Plasmodium falciparum	Affe	Merozoiten- Oberflächenprotein	26
Hakenwurm	Hund	Proteolytisches Enzym	27

spiel handelt es sich dabei um ein Enzym, das der Hakenwurm zur Verdauung (Proteolyse) des Wirtsblutes benützt. Enthält dieses Blut – dank vorhergehender Impfung des Wirtes – nun Antikörper gegen dieses proteolytische Enzym, ist der Wurm nicht mehr in der Lage, das Wirtsblut zu verdauen und verhungert buchstäblich «bei vollem Bauch».

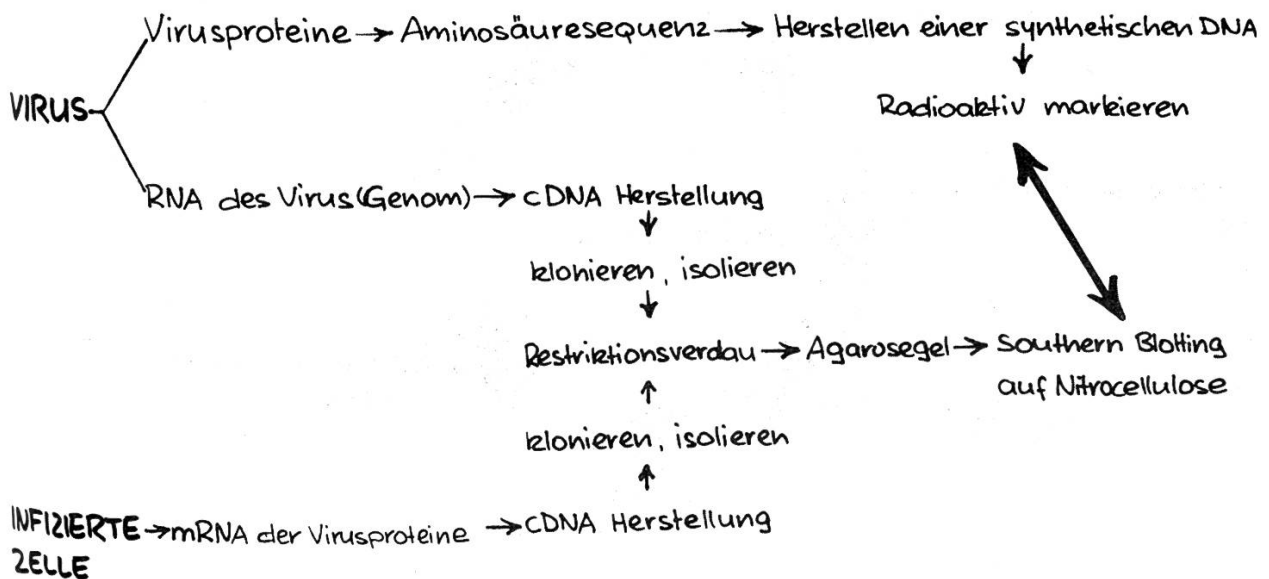
#### *Gentechnologisch hergestellte Vakzine gegen Maul- und Klauenseuche*

Wie bereits erwähnt, war die erste gentechnologisch hergestellte Vakzine diejenige gegen Maul- und Klauenseuche [12]. Die Details dazu wurden früher bereits zusammengefasst [28]. In den meisten Fällen konzentrierte man sich auf das Virus Protein 1 (VP 1) als Antigen [3].

Figur 1 gibt einen schematischen Überblick über die grundsätzlichen Strategien. Einerseits wurde zuerst das Virus isoliert. Daraus isolierte man die Virus-RNA und stellte cDNA her (siehe Zitat 2 für Details). Andererseits wurden auch mRNA von Virusproteinen aus infizierten Zellen direkt isoliert, wovon man ebenfalls cDNA herstellte. Beide cDNA's, von viraler oder mRNA hergestellt, wurden in Vektoren kloniert und nach anschliessender Selektion wieder isoliert und nach Verdauung mit Restriktionsendonukleasen in einem Agarose-Gel elektrophoretisch aufgetrennt. Die getrennten Fragmente wurden mittels «Southern-Blotting» auf einen Nitrozellulosefilter transferiert (siehe 2 für Details über das «Southern-Blotting»-Verfahren).

Gleichzeitig wird das notwendige Referenzoligonukleotid folgendermassen synthetisiert: Die Aminosäuresequenz von VP1 ist bekannt. Es ist heute möglich, innerhalb einiger Stunden aus einer bekannten Aminosäuresequenz Oligonukleotid-DNA-Sequenzen mittels automatisierten Maschinen herzustellen [6]. Ein solchermassen hergestelltes Oligonukleotid wird am 5'OH-Ende radioaktiv markiert, indem es mit dem radioaktiven [ $\gamma$ - $^{32}\text{P}$ ]ATP und dem Enzym Polynukleotidkinase inkubiert wird. Nach

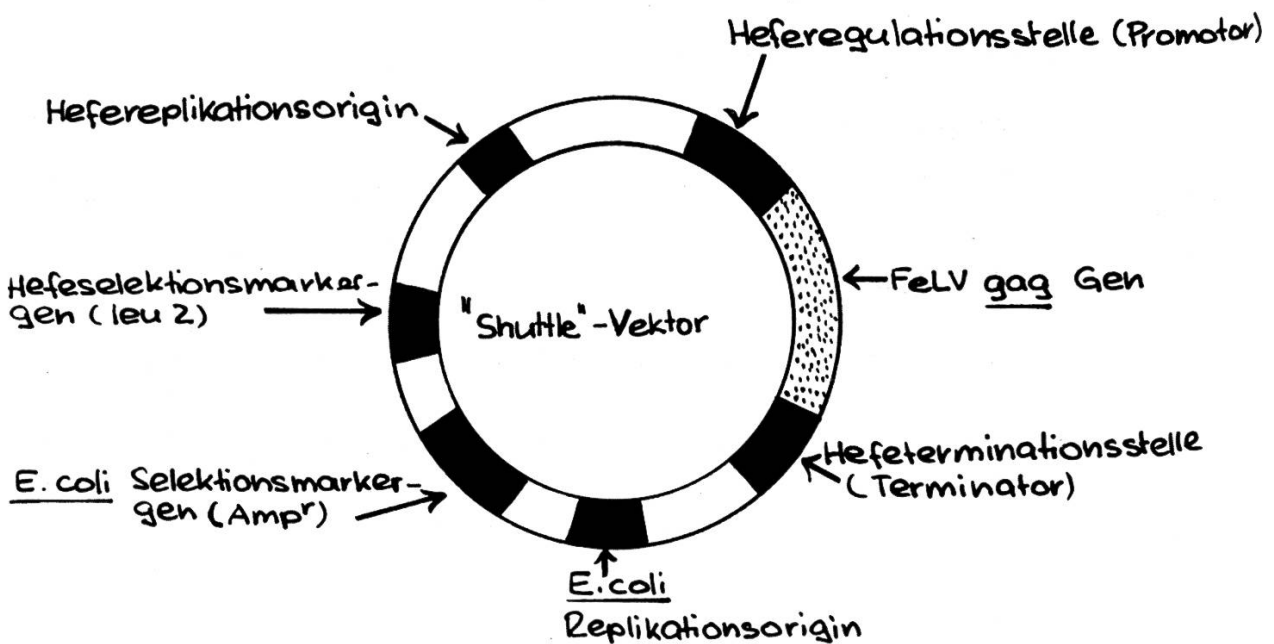
Reinigung kann dieses Oligonukleotid zur Hybridisierung gegen die im Southern Blotting transferierten Fragmente herangezogen werden. Somit wird das VP1 Gen oder mindestens ein Teil davon identifiziert. Es kann, nachdem es charakterisiert wurde (z.B. Sequenzierung und Vergleich mit der Aminosäurereihenfolge im VP1-Gen) in einen *Baukastenvektor* kloniert werden, dessen Steuerung von aussen an- und abgeschaltet werden kann (Figur 11 in Zitat 2). Drei verschiedene Proteine wurden so in Baukastenvektoren in grossen Mengen exprimiert: (A) das ganze VP1-Protein (24000 Dalton); (B) ein Fragment davon (13000 Dalton), nämlich die Aminosäuren 55 bis 179 der 213teiligen Kette des VP1-Proteins; und (C) ein VP1-Fusionsprotein von 44000 Dalton, das am aminoterminalen Ende noch zusätzlich einen Proteinanteil desjenigen Genes enthält, dessen regulatorische Stelle (Promotor) im Vektor vorkommt (siehe Figur 11 in 2 und Figur 3 in 28 für Details). Das Fusionsprotein ist resistenter gegen proteolytischen Abbau durch bakterielle Proteasen [12]. Fast alle Versuchstiere wurden mit diesen drei Antigenen erfolgreich geimpft. Nach einem Booster mit dem vollständigen VP1-Antigen waren 7 von 8 Rindern und 10 von 12 Schweinen immun; mit dem 13000-Dalton-Antigen waren es 2 von 2 Rindern und 3 von 3 Schweinen und mit dem VP1-Fusionsprotein 6 von 6 Rindern und 2 von 2 Schweinen. Es hat sich gezeigt, dass das 13000-Dalton-Fragment vollauf genügt, und zwar in Dosen, die um 50–75% geringer sind als diejenigen des ganzen VP1-Proteins. Eine neuere Arbeit berichtet, dass ein synthetisches Peptid der Aminosäurereste 141–158, was einem Peptid von nur 1800 Dalton entspricht, genügt, um einen vollständigen Impfschutz zu erzielen [29], der allerdings durch das karboxyterminale Endpeptid (Aminosäure 200–213) verstärkt werden muss [29]. In welcher Form eine gentechnologisch hergestellte Vakzine ihren Weg machen wird, kann heute noch nicht sicher beurteilt werden.



Figur 1: Strategien zur Klonierung von Maul- und Klauenseuche-Virus-Genen. Details siehe Text.

### Gentechnologisch hergestellte Vakzine gegen die Feline Leukämie

Der Erreger der feline Leukämie ist ein Retrovirus vom Typ C. Das feline Leukämievirus (FeLV) hat RNA als genetisches Material. Die Morbidität und Mortalität bei Hauskatzen in der Schweiz ist ziemlich hoch [30]. Eine konventionell hergestellte Vakzine gegen FeLV wurde vor einigen Jahren entwickelt [31] und ist in der Schweiz bereits auf dem Markt [30]. Eine gentechnologisch hergestellte Vakzine drängt sich auf, da (a) der Preis gegenwärtiger Vakzinen hoch ist und (b) eine Unsicherheit in bezug auf Langzeiteffekte und Sicherheit der Ganzvirusvakzine vorhanden ist. Dies gilt vor allem für Retroviren [18]. Eine vielversprechende Strategie, um zu einer gentechnologischen Vakzine gegen FeLV zu gelangen, wurde von der Arbeitsgruppe von *Murray Gardner* in Davis, Kalifornien, verfolgt [18]. Das Hüllprotein des Virus (*env*-Gen) wurde in die Bierhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) kloniert. Die Bierhefe ist eine eukaryotische Zelle und hat sich in den letzten drei Jahren als *die* Wirtszelle entpuppt, in der man viele eukaryotische Gene studieren und, was in unserer Diskussion wichtig ist, funktionell exprimieren kann. Das *env*-Gen wurde zuerst mit einem Hefepromotor (Pyruvatkinasepromotor) ligiert und anschliessend in einen sogenannten «Shuttle-Vektor» kloniert. Ein «Shuttle-Vektor» kann sich *sowohl* im Bakterium *E. coli* als auch in der Bierhefe *S. cerevisiae* vermehren (Fig. 2). Er enthält einerseits Replikationsorigins sowohl für Hefe als auch für *E. coli* und andererseits einen Selektionsmarker für die Hefe (*leu2* Gen) und für *E. coli* (Ampizillinresistenz). Aus einem Liter Hefekultur wurden so mehrere Milligramme *env*-Protein isoliert und anschliessend in Vakzinationsversuchen getestet. Das Resultat ist ermutigend: 10 Katzen wurden mit *env*-Protein immunisiert, wobei 4 eine



Figur 2: «Shuttle»-Vektor, der das FeLV *env*-Gen enthält. Ein «Shuttle-Vektor» kann sich sowohl in *E. coli*-Bakterien als auch in der Hefe vermehren. Details siehe Text.

Antikörperantwort gaben und alle nicht-virämisch blieben. Nach zwei Wochen wurde eine FeLV-Infektion vorgenommen. Es machten nun alle Tiere eine Antikörperantwort und 9 Katzen blieben nicht-virämisch [18].

## B. Analyse hochvariabler DNA-Abschnitte von Nutz- und Haustieren

### *Biologische Voraussetzungen*

Es ist schon seit mehreren Jahren bekannt, dass im Genom von Tieren und von Menschen DNA-Abschnitte vorkommen, die polymorph sind. Solche DNA-Abschnitte sind von Individuum zu Individuum oder von Tierstamm zu Tierstamm verschieden. 1985 konnte die Arbeitsgruppe von *Alec Jeffreys* in England beim Menschen hochvariable DNA-Abschnitte entdecken, die als «Minisatelliten» bezeichnet wurden [32]. Die physiologische Bedeutung dieser «Minisatelliten» ist nicht klar. Es gibt Hinweise, dass sie bei verschiedenen Aspekten der Regulation der Zellteilung und in der Zelldifferenzierung beteiligt sein könnten. Die hohe Variabilität kann nun herangezogen werden, um individuelle Analysen auf der DNA-Ebene vorzunehmen.

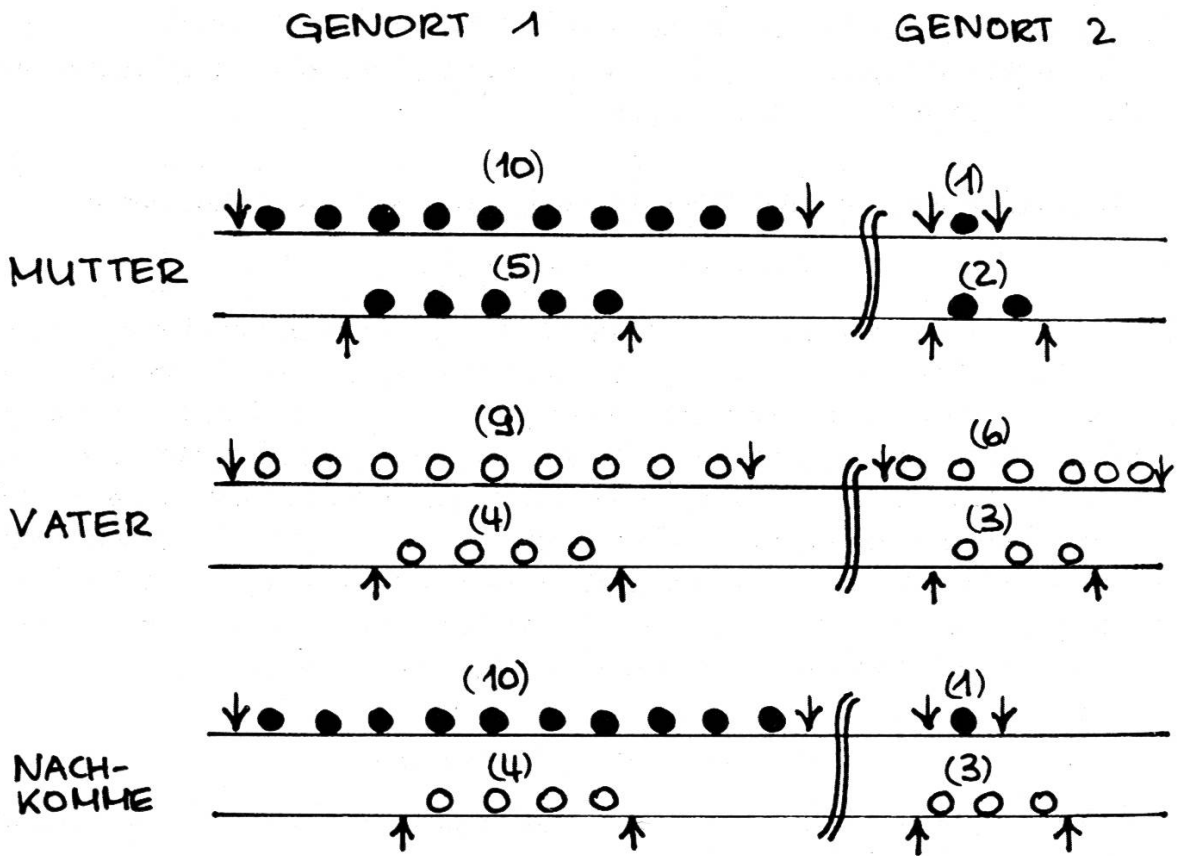
### *Die DNA-Fingerprintmethode*

Die «Minisatelliten»-DNA-Abschnitte sind in mehreren Kopien hintereinander aufgereiht. Deshalb bezeichnet man sie auch als Tandem-Repeats. Innerhalb eines solchen Tandem-Repeats befindet sich ein zirka 16 Basenpaare langes DNA-Stück, das in *allen Repeats gleich* aufgebaut ist und das als «Core-Sequenz» bezeichnet wird [32]. Eine DNA-Sequenz, die diese «Core-Sequenz» enthält, kann radioaktiv markiert werden und dient als Sonde zum Auffinden dieser Repeats im Genom von Mensch und Tier.

Nach Blutentnahme wird das Genom (die DNA) des zu untersuchenden Individuums aus den Lymphozyten isoliert und mit einer Restriktionsendonuklease geschnitten (Figur 3, Pfeile). Je nach Anzahl der «Minisatelliten» gibt es unterschiedliche Größen von DNA-Fragmenten. Die DNA wird in einem Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt und anschliessend auf einen Nitrozellulosefilter transferiert («Southern-Blotting»-Verfahren, Figur 10 in vorheriger Arbeit, Zitat 2). Danach wird die oben beschriebene, radioaktive «Minisatelliten»-DNA-Sonde zusammen mit der DNA-Blutprobe, die sich nun auf dem Filter befindet, inkubiert. Dabei wird die Sonde gemäss der komplementären Basenpaarung an die «Core-Sequenz» der Probe hybridisiert. Die Radioaktivität wird dank Schwarzfärbung eines Röntgenfilms (= Autoradiographie) sichtbar. Somit erhält man ein für eine Familie oder ein Individuum *spezifisches* Bandenmuster. Durch Vergleich der Nachkommen mit der Elterngeneration kann direkt die Verwandtschaft abgelesen werden (Figur 3, vergleiche Genotypanordnung der Eltern und der Nachkommen im Vergleich zum «Phänotyp» auf dem Agarosegel). Wegen der «Fingerabdrücke» auf DNA-Ebene bezeichnet man diese Methode als DNA-Fingerprint.

Als Sonde wird meistens der *E.-coli*-Bakteriophage M13 herangezogen, ein heute vielfach verwendeter Vektor [6], in den die «Minisatelliten»-DNA hineinkloniert wurden [32]. Kürzlich hat sich sogar gezeigt, dass sich im Bakteriophagen M13 selber «Mi-





SOUTHERN



BLOTTING

REPEATS	MUTTER	VATER	NACHKOMME
10	●		●
9		○	
8			
7			
6		○	
5	●		
4		○	○
3		○	○
2	●		
1	●		●

nisatelliten»-Sequenzen befinden [33], so dass diese Phagen-DNA, die ohnehin in allen biochemischen Labors der Welt vorhanden ist, direkt als Sonde gebraucht werden kann.

### *Anwendungsmöglichkeiten für die Veterinärmedizin*

Da diese «Minisatelliten»-DNA beim Menschen gefunden wurde, drängten sich dort erste Anwendungsmöglichkeiten auf. Die «Minisatelliten» haben eine so grosse Varianz, dass die Wahrscheinlichkeit, dass zwei nicht eineiige Menschen den *selben* Fingerprint aufweisen, kleiner als  $10^{-10}$  ist [34]. Es ist demnach sehr leicht, Individuen mit der DNA-Fingerprintmethode zu erfassen. Im weiteren genügen ganz kleine Mengen von Zellmaterialien, um die DNA zu isolieren. Es gelang dies u.a. aus Haarbälgen, Spermien und Hautfetzen. Deshalb eignet sich das DNA-Fingerprinting für Vaterschaftsnachweis [35] und forensische Zwecke, wie zum Nachweis von Gewaltverbrechen und Vergewaltigungen [36].

Aber nun zur Veterinärmedizin: Grundsätzlich hat sich herausgestellt, dass die «Minisatelliten» ubiquitär im ganzen Tierreich vorkommen. Die DNA-Fingerprintmethode wurde bisher erfolgreich bei Mäusen [37], Vögeln [38], Hunden [39], Katzen [39] und Rindern [40] erprobt. Genaue genetische Definition von Inzuchtmäusestämmen ist eine Möglichkeit für das Fachgebiet der Labortierkunde. Bei Vögeln und auch anderen Wildtieren können Verwandtschaftsgrade festgestellt, sowie evolutionäre Studien angestellt werden. Katzen- und Hund-«Minisatelliten»-Varianten werden sich eignen zum objektiven Nachweis des «Ausbreitens» von genetisch bedingten Krankheiten (z.B. Hüftgelenkdysplasie gewisser Hunderassen). Bei landwirtschaftlichen Nutztieren schliesslich wird man sich schon bald der Technik des DNA-Fingerprintings bedienen [41]. Es ist durchaus denkbar, dass der Besamungstierarzt in einigen Jahren als optisches Gütezeichen für Sperma gewisser Stiere dem Bauern einen DNA-Fingerprint vorzeigen wird.

### **Zusammenfassung**

Die generellen Anwendungsmöglichkeiten der Gentechnologie umfassen biologische Stoffumwandlung in der Rohstoffversorgung, Pflanzenproduktion, Tierproduktion, Umwelt, Gesundheit sowie die Humangenetik. In der Veterinärmedizin stehen die Möglichkeiten der Tierproduktion und die Tiergesundheit im Vordergrund. Gentechnologisch hergestellte Antigene stehen als potentielle Vakzinen gegen viele Krankheiten zur Verfügung. Die zwei Beispiele von Maul- und Klauenseuche sowie der Felinen Leukämie zeigen, dass verschiedene Strategien und Möglichkeiten vorhanden sind, und dass es auch mit den Möglichkeiten der Gentechnologie vorläufig noch keine Patentrezepte für die Produktion von Vakzinen gibt. Ein weiteres Anwendungsbeispiel ist die Analyse von hochvariablen DNA-Abschnitten (sogenannte «Minisatelliten») von Nutz- und Heimtieren. Sie wird mittels der

---

*Figur 3: Analysierbarkeit hochvariabler repetitiver DNA-Sequenzen im Genom von Tieren und mittels dem Southern-«Blotting»-Verfahren. Je nach der Häufigkeit der Tandem-Repeats (= Zahl in Klammer) bei Mutter (●) und Vater (○) gibt es verschieden lange DNA-Stücke nach Verdauung mit Restriktionsendonukleasen (Pfeile), die bei elektrophoretischer Trennung im Agarosegel verschiedene Wanderungsgeschwindigkeiten aufweisen. Durch Vergleich der Banden der Nachkommen mit den beiden Eltern kann eine Korrelation zum Vater hergestellt werden. Details siehe Text.*

DNA-Fingerprintmethode durchgeführt und erlaubt Individualisierung von Tieren und Tierstämmen. Tierzuchtprobleme und Früherkennung genetischer Krankheiten können damit billig und mit grösserer Sicherheit angegangen werden.

### Résumé

Les possibilités générales d'application de la technologie génétique comprennent la transformation biologique de matières dans le cadre de la production des matières premières, dans la production végétale et animale, dans la protection de l'environnement, la santé publique et la génétique humaine. En médecine vétérinaire, les possibilités relatives à la production animale et à l'hygiène vétérinaire prennent la première place. Des antigènes produits par les moyens de la technologie génétique comme point de départ pour la production de vaccins efficaces sont à disposition pour un nombre considérable de maladies. Les deux exemples de la fièvre aphteuse et de leucémie du chat démontrent d'une part qu'il y a différentes stratégies et possibilités, et d'autre part qu'il n'existent – dans ce champ comme dans celui traditionnel – des règles généralement valables.

Un autre champ d'application est l'analyse des secteurs dits supervariables de l'ADN (mini-satellites) dans les animaux de rente et de compagnie. Elle est effectuée à l'aide de la technique des fingerprints ADN et permet l'individualisation d'animaux ou de groupes. Des problèmes de zootechnie et le dépistage de défauts d'ordre génétique peuvent ainsi être abordés d'une manière plus économique et plus efficace.

### Riassunto

Le possibilità generali d'applicazione della tecnica genetica comprendono mutazioni biologiche materiali nell'approvvigionamento delle materie prime, produzione delle piante, produzione animale, ambiente, salute e nella genetica umana. Nella medicina veterinaria sono predominanti le possibilità della produzione e della salute animale. Antigeni preparati con tecnica genetica sono disponibili quali potenziali vaccini contro molte malattie. I due esempi della febbre aftosa e della Leucemia felina dimostrano che sono applicabili diverse strategie e possibilità e che anche con le possibilità della tecnica genetica per il momento non esiste una ricetta per la produzione di vaccini. Un ulteriore esempio di applicazione è la analisi di settori DNA altamente variabili (cosiddetti «minisatelliti») di animali da reddito e domestici. Essa permette di individualizzare animali e ceppi d'animali. Problemi connessi alla protezione degli animali ed alla precoce individuazione di malattie genetiche possono essere presi in esame con poca spesa e con maggior sicurezza.

### Summary

General practical applications of recombinant DNA technology includes the food production, plant production, animal production, environmental problems, health and human genetics. In veterinary medicine, the most important practical consequences are production and health of animals. Two possibilities, namely the antigen production in bacteria and the analysis of polymorphic DNA sequences of individual animals are discussed in more detail. Antigens produced by recombinant DNA technology are potential vaccines against many diseases. The two examples of foot- and mouth disease and feline leucemia showed, that different strategies had to be taken and that there are no general recipes for vaccine production through recombinant DNA technology. Very important will be the analysis of polymorphic DNA sequences (so-called minisatellite DNA) of farm and pet animals. Individualization for breeding purposes and the analysis of genetical diseases can be performed through this method, called the DNA fingerprinting.

### Literatur

[1] Bericht der Enquete-Kommission «Chancen und Risiken der Gentechnologie». Deutscher Bundestag, 10. Wahlperiode, Drucksache 10/6775 (1987). – [2] Hübscher U.: Gentechnologie und Veterinärmedizin. I Generelles Prinzip und praktische Anwendungsbeispiele. Schweiz. Arch. Tierheil-

- kunde 129, 513–528 (1987). – [3] *Bachrach H.L.*: New Approaches to Vaccines. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine* 30, 1–38 (1985). – [4] *FAO*: European Commission Report for the Control of Foot- and Mouth-Disease, 24th session, FAO; and Outbreak, Isle of Wight (1981). – [5] *Smith G.L. and Moss B.*: Infectious poxvirus vectors have capacity for at least 25,000 base pairs of foreign DNA. *Gene* 25, 21–28 (1983). – [6] *Winnacker E.L.*: From Genes to Clones: Introduction to Gene Technology. VGH Verlagsgesellschaft, Weinheim (1987). – [7] *Pilacinski W.P., Glasmann D.L., Krzyzek R.A., Sadowski P.L. and Robbins A.K.*: Cloning and expression in *Escherichia coli* of the bovine papilloma virus-L1 and papilloma virus-L2 open reading frames. *Biotechnology* 2, 356–360 (1984). – [8] *Mayfield J.E., Good P.J., van Oort H.J., Campbell A.R. and Reed D.E.*: Cloning and Cleavage site Mapping of DNA from Bovine Herpes virus I (Cooper Stain). *J. Virol.* 47, 259–264 (1983). – [9] *Robbins A.K., Weiss J.H., Eunquist L.W. and Watson R.J.*: Construction of *E. coli* Expression Plasmid Libraries: Localization of a Pseudorabies Virus Glycoprotein Gene. *J. Mol. Appl. Genet.* 2, 485–496 (1984). – [10] *Carlson J., Maxwell I., Maxwell F., McNab A., Rushlaw K., Mildbrand M., Teramoto Y. and Winston S.*: In: *Modern Approaches to Vaccines* (Chanock R.M. and Lerner R.A. eds.) Cold Spring Harbor Laboratory, New York, pp 195–201 (1984). – [11] *Flores J., Sereno M., Kalica A., Keith J., Kapikian K. and Chanock R.*: In: *Modern Approaches to Vaccines* (Chanock R.M. and Lerner R.A. eds.) Cold Spring Harbor Laboratory, New York, pp 159–164 (1984). – [12] *Kleid D.G., Yansura D., Small B., Dowbenko D., Moore D.M., Grubman M.J., McKercher P.D., Morgan D.O., Robertson B.H. and Bachrach H.L.*: Cloned viral protein vaccine for foot- and mouth disease: Responses in cattle and swine. *Science* 214, 1025–1029 (1981). – [13] *Hu S., Bruszewski J., Boone T. and Sousa L.*: In: *Modern Approaches to Vaccines* (Chanock R.M. and Lerner R.A. eds.) Cold Spring Harbor Laboratory, New York, pp 219–223 (1984). – [14] *Binns M.M., Bournsell M.E.G., Cavanagh D., Peppin D.J.C. and Brown T.D.K.*: Cloning and Sequencing of the Gene Encoding the Spike Protein of the Coronavirus IBV. *J. Gen. Virol.* 66, 719–726 (1985). – [15] *Rozenblatt S., Gerang C., Lavil V. and Neuman F.S.*: Cloning and Characterization of DNA Complementary of the Measles Virus mRNA Encoding Hemagglutinin and Matrix Protein. *J. Virol.* 42, 790–797 (1982). – [16] *Rose J.K. and Shatterman A.*: Conditional expression of the vesicular stomatitis virus glycoprotein gene in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78, 6670–6674 (1981). – [17] *Yelverton E., Norton S., Obijeski J.F. and Goeddel D.V.*: Rabies Virus Glycoprotein Analogs Biosynthesis in *Escherichia coli*. *Science* 219, 614–620 (1983). – [18] *Lucio P., Parkes D., Van Nest M., Dina D., Hendrix K. and Gardner M.B.*: Recombinant DNA Approaches to Feline Leukemia Virus Immunization. In: *Genetic engineering of animals* (Evans J.W. and Hollaender A., eds.) Basic Life Sci. Plenum Press, New York, 37, 207–215 (1986). – [19] *Gupta P., Kashmiri S.V.S. and Ferrer J.F.*: Transcriptional Control of the Bovine Leukemia Virus Genome. Role and Characterization of a Non-Immunoglobulin Plasma Protein from Bovine Leukemia Virus-Infected Cattle. *J. Virol.* 50, 267–270 (1984). – [20] *Sprengel R., Kuhn C., Manso C. and Will H.*: Cloned Duck Hepatitis B Virus DNA is Infectious in Pekin Ducks. *J. Virol.* 52, 932–937 (1984). – [21] *Isaacson R.E.*: Development of Vaccines for Bacterial Diseases Using Recombinant DNA Technology. *Avian Dis.* 30, 28–36 (1986). – [22] *Vodkin, M.H. and Leppla S.H.*: Cloning of the Protective Antigen Gene of *Bacillus Anthracis*. *Cell* 34, 693–697 (1983). – [23] *Gamble H.R. and Zarlenga D.S.*: Biotechnology in the Development of Vaccines for Animal Parasites. *Vet. Parasitol.* 20, 237–250 (1986). – [24] U.S. Department of Agriculture. *Agricultural Res.* 33, 13 (1985). – [25] *Young J.F., Hockmeyer W.T., Gross M., Ballou W.R., Wirtz R.A., Trosper J.H., Beaudain R.L., Hollingdale M.R., Miller L.H., Diggs C.L. and Rosenberg M.*: Expression of *Plasmodium falciparum* Circumsporozoite Proteins in *Escherichia coli* for Potential Use in Human Malaria Vaccine. *Science* 228, 958–962 (1985). – [26] *McGarvey M.J., Mach B. and Perrin L.H.*: Cloning and Expression in Bacteria of the Genes for Merozoite-specific Antigens from the Malaria Parasite *Plasmodium falciparum*. In: *Vaccines 85* (Lerner R.A., Chanock R.M. and Brown F. eds.) Cold Spring Harbor Laboratory, New York, pp 25–29 (1985). – [27] *Hotez P.J.*: In: *Genetic Engineering News*, Mary Ann Liebert, Inc. New York, Vol. 5, 24–25 (1985). – [28] *Hübscher U.*: Gentechnologie im Dienste der Veterinärmedizin. *Schweiz. Arch. Tierheilkunde* 124, 613–623 (1982). – [29] *Di Marchi R., Brooke G., Gale C., Cracknell V., Doel T. and Mowat N.*: Protection of Cattle Against Foot- und Mouth-Disease by a Synthetic Peptide. *Science* 232, 639–643 (1986). – [30] *Lutz H.*: Feline Leukämievirus-Vakzine Leukocell: Hinweise zu deren Anwendung. *Schweiz. Arch. Tierheilkunde* 128, 255–259 (1986). – [31] *Lutz H., Pederson N.C. and Theilen G.H.*: Course of feline leukemia

virus infection and its detection by enzyme-linked immunosorbent assay and monoclonal antibodies. *Am. J. Vet. Res.* 44, 2054–2059 (1983). – [32] *Jeffreys A.J., Wilson V. and Thein S.L.*: Hypervariable «minisatellite» regions in human DNA. *Nature* 314, 67–73 (1985). – [33] *Vassart G., Georges M., Monsieur R., Brocas H., Lequarre A.S. and Christophe D.*: A Sequence in M13 Phage Detects Hypervariable Minisatellites in Human and Animal DNA. *Science* 235, 683–684 (1987). – [34] *Jeffreys A.J., Brookfield J.F.Y. and Semenov R.*: Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. *Nature* 317, 818–819 (1985). – [35] *Jeffreys A.J., Wilson V. and Thein S.L.*: Individual-specific «fingerprints» of human DNA. *Nature* 316, 76–79 (1985). – [36] *Gill P., Jeffreys A.J. and Werret D.J.*: Forensic application of DNA «fingerprints». *Nature* 318, 577–579 (1985). – [37] *Jeffreys A.J., Wilson V., Kelly R., Taylor B.A. and Bulfield G.*: Mouse DNA «fingerprints»: Analysis of chromosome localization and germ-line stability of hypervariable loci in recombinant inbred strains. *Nucl. Acids Res.* 15, 2823–2836 (1987). – [38] *Burke T. and Bonford M.W.*: DNA fingerprinting in birds. *Nature* 327, 149–152 (1987). – [39] *Jeffreys, A.J. and Morton D.B.*: DNA Fingerprints of Dogs and Cats. *Anim. Genet.* 18, 1–16 (1987). – [40] *Hill W.G.*: DNA fingerprints applied to animal and bird populations. *Nature* 327, 98–99 (1987). – [41] *Soller M. and Beckmann J.S.*: Proc. 2nd World Congr. Genet. Appl. Livestock Prod. 6, 395–404 (1982).

Manuskripteingang: 20. August 1987

## VERSCHIEDENES

### Ehrenmitglieder der Gesellschaft schweizerischer Tierärzte im letzten Jahrhundert

Die Jahresversammlung von 1816 fand am 2. September auf der Bocken in Horgen in Anwesenheit von Prof. Schmiderer aus Freiburg, 15 Mitgliedern und drei Gästen statt. Zu Ehrenmitgliedern wurden die Professoren Römer in Zürich und Emmert in Bern ernannt.

#### 3. Johann Jakob Römer 1763–1819

Geboren am 8. Januar 1763 in Zürich. Zunächst dreijährige kaufmännische Lehre in Bergamo, anschliessend Studium am Medizinisch-Chirurgischen Institut in seiner Vaterstadt. Ab 1785 Fortsetzung des ärztlichen Studiums in Göttingen mit Promotion 1786. Die nachfolgende Tätigkeit als praktizierender Arzt in Zürich füllte ihn nicht aus und konnte auch seine Existenz nicht sichern: so begann er, am Medizinisch-Chirurgischen Institut Vorlesungen über Botanik zu halten und nahm die Stelle eines Spitalarztes am Städtischen Siechenhaus zu St. Moritz auf der Spannweid an. Von 1797 bis Lebensende war er Leiter des Botanischen Gartens in Zürich; gestorben am 15. Januar 1819. Römer verfasste eine Reihe medizinischer Monographien und war auch Herausgeber von Zeitschriften. Besonders bekannt wurde er jedoch durch seine Tätigkeit auf dem Gebiete der Botanik; so besorgte er z. B. in Zusammenarbeit mit J. A. Schultes eine Neuauflage der 16. Auflage von Linné's «Systema vegetabilium» im Jahre 1817.

Als Mitglied des Sanitätskollegiums hatte er auch die Aufgabe, Tierseuchen auf dem Lande zu überwachen und zu bekämpfen, wobei er wohl den Mangel an gut ausgebildeten Tierärzten erkannte. So legte er Ende 1818 dem Sanitätsrat eine kleine Schrift «Für junge Tierärzte des Kantons Zürich» vor und wurde damit zum eigentlichen Begründer der Tierarzneischule Zürich – deren Eröffnung im Jahre 1820 er dann allerdings nicht mehr erlebte. Eine Schilderung und Würdigung dieser Rolle Römers findet sich in der Dissertation von P. Storck 1977. Von der Wertschätzung, der er sich im Kreise unserer Gesellschaft erfreute, zeugt die dem 2. Bande des «Archivs» (1820) vorangestellte Widmung «Denen Manen Dr. Johann Jakob Römers» mit seinem Porträt als Titelbild.

(Fortsetzung auf Seite 583)