

Tiermedizin ist ein facettenreiches Forschungsgebiet. Professor Eckhard Wolf vom Institut für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie untersucht bei Kälbern im Embryonalstadium die biochemische Kommunikation mit den Muttertieren. Als erster Wissenschaftler in Deutschland hat er mit dem Kalb Uschi ein Säugetier geklont. Darüber hinaus gelang ihm in Experimenten gemeinsam mit seinem Team die effiziente Einbringung eines fremden Gens in das Erbgut von Schweinen.

SUSANNE WEDLICH

DER DOKTOR UND SEIN LIEBES VIEH

Professor Eckhard Wolf ist Tiermediziner. Wer dabei nur an kalbende Kühe und werfende Säue denkt oder an Kinder, die ihren kranken Nagerfreund in die Kleintierpraxis bringen, hat Recht. Er liegt allerdings auch völlig daneben. Trächtige Rinder und Schweine gibt es tatsächlich in den Ställen von Eckhard Wolf, Lehrstuhl für molekulare Tierzucht und Biotechnologie. Nur hat sich eines der dort geborenen Kälber, das erste nach der ‚Dolly-Methode‘ geklonte Säugetier Deutschlands, als wissenschaftliche Sensation entpuppt. Die Artgenossen des Tieres werden von Eckhard Wolf schon im Embryonalstadium bei der biochemischen Kommunikation mit dem Muttertier ‚belauscht‘, und die kleinen Ferkel, die hier zur Welt kommen, leuchten auch schon mal intensiv grün. Daneben hat der Tiermediziner mit sehr vielen Mäusen zu tun: Sie helfen ihm die Funktion von Genen und deren Bedeutung bei der Entstehung von Krankheiten herauszufinden.

„Wie die meisten Kolleginnen und Kollegen habe ich mein Tiermedizinstudium begonnen, um praktizierender Tierarzt zu werden und kranken Tieren zu helfen“, meint Eckhard Wolf. „Ich halte das auch nach wie vor für eine sehr wichtige Aufgabe. Nach dem Studium an der LMU wurde mir aber bewusst, dass die Tiermedizin auch andere spannende Aspekte umfasst.“ Auch seine Promotion und Postdoc-Zeit verbrachte der gebürtige Regensburger an der LMU. Anschließend habilitierte er in Wien, kehrte aber 1995 als Vorstand des Instituts für molekulare Tierzucht an die LMU München zurück.

KLONKALB USCHI SORGT FÜR SCHLAGZEILEN

Schon drei Jahre später katapultierte ihn eine gut gewachsene Schönheit mit braunen Augen und sanftem Gemüt in die Schlagzeilen. Uschi, das so genannte Klonkalb, war das erste geklonte Säugetier Deutschlands. Der Erfolg brachte auch den zu diesem Zeitpunkt erst 36 Jahre alten Eckhard Wolf ins Licht der Öffentlichkeit. Gemeinsam mit seinem Team hatte er für die Versuche dieselbe Technik eingesetzt, die auch von den Klonpionieren um Ian Wilmut im schottischen Roslin-Institut angewandt worden war, um mit dem Schaf Dolly das erste geklonte Säugetier überhaupt zu schaffen. Auf dem Papier liest sich das technische Procedere sehr einfach: Man nehme eine Eizelle, entkerne sie und füge dann den Kern aus einer Körperzelle eines erwachsenen Tieres ein. Schon ein kleiner Stromschlag genügt, um beide Komponenten verschmelzen zu lassen. Die Eizelle kann beginnen, sich zu teilen. Das im ersten Schritt ent-

► Das UV-Licht bringt es an den Tag: Diese Ferkel leuchten grün, weil die Forscher ein Gen mit einem grün leuchtenden Protein kodiert hatten. Auf diese Weise konnten sie die effiziente Einbringung fremder DNA in das Erbgut der Schweine wirksam veranschaulichen.



fernte genetische Material wurde ersetzt durch die im neu eingefügten Kern enthaltene Erbinformation. Der dabei entstandene Embryo ist genetisch identisch mit dem Tier, dessen Zellkern verwendet wurde, nicht der Eizellenspenderin. In der Praxis allerdings

sind manchmal Hunderte von Versuchen nötig, um einen Erfolg zu erzielen. „Das Genaktivitätsmuster im Kern einer Zelle, die von einem erwachsenen Tier stammt und deshalb spezialisiert ist, muss so verändert werden, dass Totipotenz entsteht, sich also ein vollständiger Organismus aus einer Zelle entwickeln kann“, erläutert der Tiermediziner. „Da die DNA-Sequenz der Kernspenderzelle vor und nach dieser Reprogrammierung identisch ist, kann die dramatische Änderung des Funktionszustandes nur auf Veränderungen der räumlichen Anordnung des Erbguts im Zellkern basieren, der so genannten epigenetischen Genregulation. Das ist eines der interessantesten und zukunftsreichsten Forschungsgebiete in der Biologie.“

Aufsehen erregende Ergebnisse können auch erzielt werden, wenn nur einzelne Gene, also für Proteine kodierende DNA-Abschnitte, in das genetische Material eines Tieres eingebracht werden. Vor etwa einem Jahr gelang Eckhard Wolf in Kooperation mit Professor Alexander Pfeifer und anderen LMU-Wissenschaftlern die effiziente Einbringung fremder DNA in das Erbgut höherer Säugetiere. Als Vehikel für die Erbsubstanz nutzten die Forscher ein Lentivirus, das in Säugerzellen eindringen kann. Verwendet wurde ein Gen, das für ein grün leuchtendes Protein kodiert – ein nicht zu übersehender Marker im Gewebe. Die DNA-Empfänger waren Schweineembryonen. Bei der Mehrzahl der geborenen Ferkel war das Gen in die eigene Erbsubstanz in allen Geweben eingebaut worden und aktiv. Ein einfacher Test bestätigt dies: Im UV-Licht leuchten die Tiere intensiv grün und geben diese Eigenschaft sogar an ihre Nachkommen weiter. Die grünen Ferkel waren aber beileibe nicht als Partygag gedacht. Diese Versuche waren ein Test für die Effizienz der Methode. Deren Erfolg war ein weiterer Schritt auf dem Weg zur gezielten Einbringung von Genen und damit verbundenen erwünschten Eigenschaften in Nutztiere. So könnten beispielsweise von transgenen Tieren Proteine mit therapeutischem Effekt produziert werden.

Ob Klonierung oder Gentransfer – die wissenschaftlichen Erfolge Eckhard Wolfs werden nicht nur mit Begeisterung aufgenommen. Auch Kritik gab es nach Bekanntmachung der Geburt und besonderen Geschichte des Kalbes Uschi. Eine Weiterentwicklung der Klonierungstechniken könne den Weg zu entsprechenden Versuchen an menschlichen Embryonen ebnen, lautete der Vorwurf. Diesen experimentellen Ansatz lehnt der dreifache Vater persönlich allerdings strikt ab. Ebenfalls umstritten aus ethischen und epidemiologischen Gründen ist eine weitere Anwendung des Gentransfers bei Nutztieren: die Xenotransplantation, also die Verwendung tierischer Organe als Transplantate für den Menschen. „Durch gezielte Übertragung von Erbmaterial könnten die Gewebe passend für den jeweiligen menschlichen Empfänger sowie insgesamt immunverträglicher gemacht werden“, meint Eckhard Wolf. „Wir arbeiten bereits mit Kollegen an transgenen Schweinen, deren Organe oder Gewebe für die Transplantationsmedizin geeignet sein sollen. Die Engpässe bei den menschlichen Organen rechtfertigen diesen Forschungsansatz, auch wenn es bis zur Realisierung der Xenotransplantation in der Klinik sicher noch ein weiter Weg ist.“

Probleme können bei diesen Techniken in jedem Stadium auftreten. So ist der Erfolg noch nicht garantiert, wenn der geklonte oder genmanipulierte Embryo in der Gebärmutter des Muttertieres angewachsen ist. Auch Monate später kann es zu einem Abbruch der Trächtigkeit kommen. Bei den ‚Uschi-Versuchen‘ etwa wurden je zwei Em-

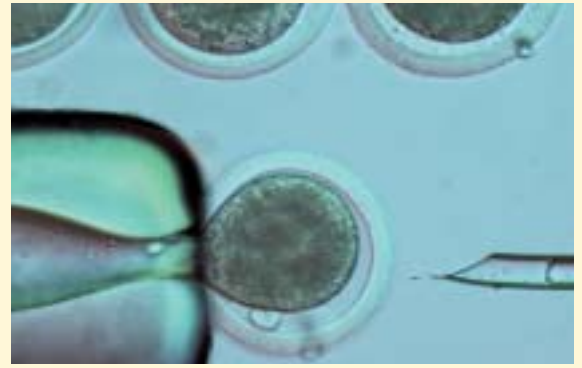
bryonen auf zwei Muttertiere übertragen, die beide trächtig wurden. Ein Embryo entwickelte sich zu dem gesunden Kalb Uschi. Bei dem zweiten Muttertier dagegen kam es nach fünf Monaten zu einem Abort. „Die Plazenta zeigte einige Besonderheiten, was auf eine Störung der Verbindung zwischen Muttertier und dem ansonsten normal entwickelten Embryo hinwies“, berichtet der Forscher. „Die intakte frühe embryo-maternale Kommunikation ist eine Voraussetzung für die Etablierung und Aufrechterhaltung einer Trächtigkeit“, ergänzt er. „Bisher sind allerdings nur wenige Signale bekannt.“ Das will Eckhard Wolf ändern. In seinen Studien verwendet er Eileiter- oder Gebärmutterzellen von eineiigen Rindern, deren Zyklus synchronisiert wurde. In eines der Tiere werden Embryonen transplantiert, das andere dient als Kontrolle. Dieser Aufbau erlaubt es, biochemische Vorgänge in den Zellen zu vergleichen und dadurch Unterschiede mit und ohne Trächtigkeit auszumachen. Die Ergebnisse sind nicht nur für Tierzüchter interessant, die sich Anwendungen erhoffen, um die Rate an Trächtigkeiten nach Embryotransfers zu erhöhen und den nachfolgenden Verlust der Embryonen zu verringern. „Inzwischen verfügen wir über recht umfangreiche Karten der Genaktivitätsmuster im Eileiter und in der Gebärmutter während verschiedener Phasen des Sexualzyklus und der frühen Trächtigkeit“, berichtet Eckhard Wolf. „Wir haben auch schon eine ganze Menge interessanter Gene gefunden, die wir nun auf ihre Funktion hin überprüfen wollen. Die Humanmedizin ist ebenfalls sehr interessiert an den Daten, da vergleichbare Studien beim Menschen aus ethischen Gründen gar nicht durchgeführt werden können.“

FAKTOREN DES WACHSTUMS

Selbst nach der Geburt des Jungtieres kann es zu Komplikationen kommen. „Die Gebiete Wachstums- und Reproduktionsforschung greifen an unserem Institut sehr eng ineinander, da als Folge von Fortpflanzungstechniken Wachstumsstörungen auftreten können“, so der LMU-Forscher. Wachstum ist einer der essentiellen Vorgänge in jedem Organismus. Dessen Größe, aber auch die eines einzelnen Organes oder Körperteils hängt von der Anzahl und dem Volumen der enthaltenen Zellen sowie der Menge an extrazellulärer Matrix und Flüssigkeit ab. Lokale und systemische Kontrollen mit unterschiedlicher Relevanz bestimmen das Wachstum. Wachstumshormone und Insulin-ähnliche Wachstumsfaktoren gehören zu den wichtigen Stimulatoren von Zellwachstum und einem Ansteigen der Zellmasse. Besonders interessant für Eckhard Wolf ist neben der Erforschung neuer Komponenten und ihres Zusammenspiels, welche Faktoren spezifische Veränderungen im Wachstum verursachen: „Mittlerweile haben wir unsere Arbeit auf weitere Wachstumsfaktoren ausgedehnt und sind zunehmend fasziniert von den Mechanismen der Regulation von Zellgröße und Zellzahl, die bei Säugetieren noch wenig erforscht sind.“ Mit dieser Forschungsrichtung kehrt der Tiermediziner zu seinen wissenschaftlichen Ursprüngen zurück. „Als Doktorand durfte ich ein Wachstumshormon-transgenes Mausmodell analysieren“, berichtet er.

Treu geblieben ist Eckhard Wolf aber nicht nur der Wachstumsregulation, sondern auch den Nagern. „Mausgenetik und ENU-Mutagenese“ heißt ein weiterer seiner übergreifenden Forschungsbereiche. Tiermodelle sind noch immer unverzichtbar, um die Genetik und Entstehung menschlicher Krankheiten zu verstehen – und werden es auf absehbare Zeit wohl auch bleiben. Die Maus ist einer der beliebtesten Organismen. Denn diese Tiere sind relativ leicht zu halten, haben eine kurze Generationsfolge und – was noch viel wichtiger ist – sind uns biologisch sehr ähnlich. In der Organisation des genetischen Materials, der Entwicklung der biochemischen Regulationswege und der gesamten Physiologie gibt es weit reichende Parallelen. Der Tiermediziner und seine

► Das Bild zeigt, wie Eizellen vom Rind für das Klonen entfernt werden. In einem nächsten Schritt wird der Kern aus einer Körperzelle eines erwachsenen Tieres eingefügt. Schon ein kleiner Stromschlag genügt, um beide Komponenten verschmelzen zu lassen.



Mitarbeiter sind an einer groß angelegten Kooperation beteiligt, dem *Munich ENU Mouse Mutagenesis Screen*. ENU bezeichnet dabei eine Chemikalie, die genutzt wird, um Veränderungen in der Maus-DNA, also Mutationen, zu verursachen. Ziel des Projekts, an dem noch zahlreiche weitere Wissenschaftlerteams beteiligt sind, ist die Auswahl jener genveränderten Mäuse, die als Tiermodelle zur Erforschung bestimmter menschlicher Leiden eingesetzt werden können. Je größer die Übereinstimmung der Defekte der Maus und der menschlichen Krankheitssymptome, desto besser. Über die Charakterisierung der Vorgänge in den Mäusezellen sollen wichtige Hinweise auf die krankhaften Veränderungen im menschlichen Körper gezogen werden. „Diese in Kooperation mit dem GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit bearbeitete Richtung hat international große Beachtung gefunden“, meint Eckhard Wolf.

FORSCHUNG NUR AN ZELLKULTUREN GENÜGT NICHT

Die Mäuse werden also auch weiterhin eine tragende Rolle in der medizinischen Forschung spielen. Immer mehr Versuche können aber auch an weniger hoch entwickelten Organismen oder Zellkulturen durchgeführt werden. Auf die Rinder und Schweine würde Wolf dennoch nicht verzichten wollen. „Natürlich arbeiten wir auch mit Zellkulturen, es gibt aber Fragestellungen, für die man auf komplexere Modellsysteme zurückgreifen muss. Darin liegt unsere Stärke“, so Eckhard Wolf, der sein zukünftiges Arbeitsfeld in der Systembiologie komplexer Organismen sieht. Um die technologischen Voraussetzungen dafür zu schaffen, hat er an der LMU das Laboratorium für funktionale Genomanalyse (LAFUGA) initiiert. Mit der so geschaffenen Technologieplattform, die mittlerweile Teil mehrerer biomedizinischer Forschungsverbände ist, werden spezielle Modellorganismen mit dem Methodenspektrum der funktionalen Genomanalyse, also Transkriptomics und Proteomics, untersucht. „Aus meiner Sicht ist die strenge Trennung zwischen grundlagen- und anwendungsorientierter Forschung heute nicht mehr gerechtfertigt“, meint er dazu.

Die Tiermedizin hält er als Ausgangspunkt für diese systematisch breit angelegte und traditionelle Fachgrenzen überschreitende Forschung besonders geeignet. „Ich glaube, ein sehr wichtiger Vorteil des Studiums der Tiermedizin ist, dass man ein Gefühl dafür bekommt, wie ein Gesamtorganismus funktioniert“, so Eckhard Wolf. „Das ist auch für die Grundlagenforschung ein großer Vorteil, und man ist dadurch ein sehr gefragter Partner für Molekular- und Zellbiologen. Ich bin überzeugt davon, dass die Tiermedizin im Bereich der biomedizinischen Forschung und im Bereich der funktionalen Genomforschung eine goldene Zukunft hat.“

Prof. Dr. Eckhard Wolf leitet das Institut für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie am Genzentrum der LMU. Er gilt als einer der führenden in Deutschland arbeitenden Klon-Experten, lehnt das Klonen von Menschen jedoch strikt ab.
ewolf@lmb.uni-muenchen.de
www.lmb.uni-muenchen.de/groups/mt/mainmt2.htm

