

Johannes Schenkel

Transgene Tiere

Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg · Berlin · Oxford

Inhalt

1	Einführung	1
	Literatur	10
2	Grundlagen der Embryologie und Molekularbiologie	13
2.1	Embryonalentwicklung der Maus	13
2.2	Die Fellfarbe der wichtigsten Labormäuse und deren Genetik	16
2.3	Die Herkunft der Labormäuse	18
2.4	Molekular- und zellbiologische Methoden zur Herstellung und Charakterisierung transgener Tiere	20
	Literatur	35
3	Vektoren	37
3.1	Vektoren zur Herstellung transgener Tiere (Überexprimierer)	37
3.2	Vektoren zur Herstellung von Ausfallmutanten (homologe Rekombination)	43
3.3	Anreicherung rekombinierter Klone in Kultur	49
3.4	Trap-Vektoren	51
3.5	Vektoren für die Virusintegration	55
	Literatur	57
4	Gewinnung von Embryonen in verschiedenen Stadien und ihre Kultivierung	61
4.1	Gewinnung der Embryonen	62
4.2	Kultivierung der Embryonen	70
	Literatur	71

5	Kultivierung embryonaler Stammzellen	73
	Literatur	79
6	Manipulation der Embryonen	81
6.1	Mikroinjektionsanlage	81
6.2	Kapillaren	83
6.3	Virusintegration	87
6.4	Mikroinjektion in Vorkerne	87
6.5	Injektion von ES-Zellen in Blastocysten	89
6.6	Alternativen zur Mikroinjektion	90
	Literatur	92
7	Vasektomie von männlichen Mäusen	95
	Literatur	97
8	Herstellung scheinträchtiger Weibchen, Embryotransfer, Austragen und Aufzucht der Tiere	99
8.1	Herstellung scheinträchtiger weiblicher Mäuse	99
8.2	Ovidukttransfer	100
8.3	Uterustransfer	103
8.4	Aufzucht transgener Tiere	104
8.5	Kaiserschnitt	106
	Literatur	107
9	Markierung der Tiere, Tests auf Transgenität	109
9.1	Markierung der Tiere	109
9.2	Test auf Transgenität	111
	Literatur	114
10	Auswirkung eines Transgens oder einer Mutation auf das Trägartier	115
	Literatur	116

11	Analyse transgener Tiere	119
11.1	Bestimmung des Phänotyps	119
11.2	Bestimmung des Expressionsmusters des Transgens im Northern Blot oder mit RT-PCR	120
11.3	Analyse der Genexpression im Western Blot	124
11.4	Gewebeschnitte	125
11.5	Blutanalyse	127
11.6	Funktionelle Assays	129
	Literatur	130
12	Zucht und Haltung transgener Tiere	131
	Literatur	135
13	Sicherung transgener Tierstämme	137
13.1	Erhaltung transgener Tiere	137
13.2	Kryokonservierung und Möglichkeiten zur Reduzierung des Versuchstierverbrauchs	138
13.3	Sanierung von Tieren	141
	Literatur	143
14	Ausstattung des Labors	145
14.1	Ausstattung des Tierlabors	145
14.2	Ausstattung eines transgenen Labors	153
	Literatur	155
15	Weitere transgene Tiermodelle und ihre Anwendung	157
15.1	Transgene Ratten	157
15.2	Transgene Kaninchen	158
15.3	Transgene Schweine	160
15.4	Transgene Schafe und Ziegen	163
15.5	Transgene Kühe	165
15.6	Transgenes Geflügel	170
15.7	Transgene Fische	171
15.8	Transgene Insekten	173

VIII Transgene Tiere

15.9 Transgene Nematoden	174
15.10 Transgene Frösche	174
Literatur	175
16 Gesetzliche Vorschriften, Empfehlungen, Patentwürdigkeit, ethische Vertretbarkeit	179
16.1 Gentechnikrecht	179
16.2 Tierschutzrechtliche Bestimmungen	181
16.3 Weitere Empfehlungen	183
16.4 Patentwürdigkeit transgener Tiere	184
16.5 Ethische Vertretbarkeit transgener Experimente	186
Literatur	187
Index	189