

## MAUS OHNE PERFORIN: ZYTOTOXIZITÄT SCHWER BEEINTRÄCHTIGT

*Einer Zürcher und Basler Forschergruppe ist es mit Hilfe der homologen Rekombination gelungen, eine sogenannte «Perforin-knockout»-Maus herzustellen. Die in der Zeitschrift «Nature» publizierte Arbeit vermittelt wichtige Erkenntnisse über die Rolle von Perforin im Kampf gegen Viren und Krebs.*

Seit rund 8 Jahren arbeiten Molekularbiologen und -biologinnen daran, Organismen zu züchten, denen ein spezielles Gen fehlt. Denn nur so lässt sich verstehen, wozu genau dieses Gen dient.

### Neues Nagetier

Wissenschaftlern und Wissenschaftlerinnen des Instituts für experimentelle Immunologie der Universität Zürich ist es nun in Zusammenarbeit mit der präklinischen Forschung der Sandoz Pharma AG in Basel gelungen, eine sogenannte «Perforin-knockout»-Maus herzustellen (KAEGI et al., 1994). Diese Arbeit fand in der Fachwelt grosse Aufmerksamkeit, denn dank der «Maus ohne Perforin» lassen sich wichtige Erkenntnisse über die Abwehrmechanismen des Körpers gewinnen. Im Vordergrund des Interesses steht der Kampf gegen Viruskrankheiten und Tumore.

Perforin ist ein wichtiger Abwehrstoff, der von zwei Typen weisser Blutkörperchen – den natürlichen Killer-Zellen und den zytotoxischen T-Lymphozyten – gebildet wird. Wie der Name andeutet, bohrt dieses Protein Löcher in die Wände jener Zellen, die dem Organismus gefährlich werden – sei es nach Befall durch Viren oder bei der Entstehung von Krebs. Hat das Perforin seine Aufgabe erfüllt und zahlreiche Löcher angebracht, verliert die angegriffene Zelle ihr osmotisches Gleichgewicht. Sie schwillt an und platzt schliesslich.

Entdeckt wurde das Perforin und seine Wirkungsweise bereits vor rund 10 Jahren. Seither diskutiert man, wie wichtig dieses Protein für die Abwehrmechanismen des Körpers tatsächlich ist. Die «Maus ohne Perforin» gibt nun Antworten darauf.

Wie David Kägi vom Institut für experimentelle Immunologie der Universität Zürich erklärte, wurde die «Perforin-knockout»-Maus mit Hilfe der sogenannten homologen Rekombination in embryonalen Stammzellen hergestellt. Dabei wurde das Perforin-Gen mit Stoppsequenzen unterbrochen, so dass es nicht mehr exprimiert werden kann. In der «Maus ohne Perforin», die lebensfähig und fertil ist, entwickeln sich die T-Lymphozyten und natürlichen Killerzellen normal. Trotzdem erliegt die «Perforin-knockout»-Maus aber selbst

einem für normale Mäuse harmlosen Virus, dem lymphozytären Choriomeningitis-Virus. Im Kampf gegen Fibrosarkom-Tumorzellen ist die perforinlose Maus ebenfalls benachteiligt, doch wirkt sich hier das genetische Defizit weniger gravierend aus. Dies ist nicht weiter erstaunlich, denn das Perforin stellt kaum die einzige Waffe gegen Krebszellen dar.

Die Resultate der in vitro-Versuche zeigen, dass die Porenbildung durch Perforin der Hauptmechanismus für die durch T-Lymphozyten und natürliche Killerzellen vermittelte Zytotoxizität ist. Auch in vivo scheint dieser Effekt entscheidend zu sein.

### Gefragtes Modellsystem

Diese Arbeit dürfte eine Reihe weiterer Untersuchungen auslösen. So erhofft man sich mit der «Perforin-knockout»-Maus ein besseres Verständnis der Autoimmunkrankheiten und bakterieller Erkrankungen. Wie David Kägi erklärte, laufen am Institut für experimentelle Immunologie der Universität Zürich entsprechende Versuche zu Diabetes und Listeriose an. Dass dieses Forschungsfeld in raschem Wachsen begriffen ist, zeigt auch die Tatsache, dass bereits drei weitere gentechnisch veränderte Mäuse ohne Perforin angekündigt sind: noch eine aus der Schweiz, eine aus den USA und eine aus Japan. Dies schreibt die schweizerische Vereinigung zur Verbreitung der Wissenschaft in ihren jüngsten Mitteilungen.

### Literatur

KAEGI, D., LEDERMANN, B., BUERKI, K., SEILER, P., ODERMATT, B., OLSEN, K.J., PODACK, E.R., ZINKERNAGEL, R.M. & HENGARTNER, H. 1994. Cytotoxicity mediated by T cells and natural killer cells is greatly impaired in perforin-deficient mice. – *Nature* 369, 31–37.

## «KOCHREZEPTE» FÜR MASSIVE SUPRALEITERBAUTEILE

*Wissenschaftler des Instituts für Nichtmetallische Werkstoffe der ETH Zürich beschäftigen sich mit der Weiterentwicklung und Optimierung supraleitender Materialien. Mit beträchtlichem Erfolg: Bereits wird im Forschungszentrum der ABB in Baden-Dättwil ein Strombegrenzer aus diesem Werkstoff getestet.*

Seit Anfang 1994 hat die Pressestelle des Schweizerischen Nationalfonds, Abteilung Schwerpunktprogramme, ihre Öffentlichkeitsarbeit um einen weiteren Dienst erweitert. Mit dem «Bild des Monats» will sie den Redaktionen aussagekräftige Bilder aus der Forschung anbieten. Das Bild

des Monats Juni 1994 stellt die Arbeit der Forschungsgruppe von Professor Ludwig J. Gauckler am Institut für Nichtmetallische Werkstoffe der ETH Zürich vor. Im Rahmen des Nationalen Forschungsprogramms (NFP 30) «Hochtemperatur-Supraleitung» des Schweizerischen Nationalfonds arbeiten die ETH-Wissenschaftler mit Supraleiter-Legierungen aus Wismut, Kupfer und weiteren Komponenten.

#### Komplexe Wärmebehandlungsprozesse

Als Werkstoffe für massive Bauteile, die bei der Temperatur von flüssigem Stickstoff ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) supraleitend sind, werden Wismut-Kuprate verwendet. Diese Legierungen lassen sich ausgehend von den pulverförmigen Komponenten in einem vielstufigen Schmelz- und Wärmebehandlungsprozess herstellen (HEEB et al., 1993). Beim Erstarren der Schmelze entsteht ein heterogenes Material mit vier verschiedenen Phasen, die alle nicht supraleitend sind. Erst in einem nachfolgenden Wärmebehandlungsprozess bei Temperaturen unterhalb des Schmelzpunktes entsteht ein supraleitendes Gefüge.



Ein Wissenschaftler am Institut für Nichtmetallische Werkstoffe der ETH Zürich überwacht den Schmelzprozess für die Herstellung eines Wismut-Kuprat-Supraleiters. Links oben im Bild ist eine mikroskopische Abbildung des komplexen polykristallinen Korngefüges des Werkstoffs eingebildet (Bild: H.R. Bramaz, Adliswil, für Schweiz. Nationalfonds, NFP/SPP-Pressestelle, Bern).

Das Erstarrungsverhalten der Wismut-Kuprate ( $\text{Bi}_2\text{Sr}_2\text{CaCu}_2\text{O}_{8+d}$ ) ist komplex und von zahlreichen Prozessparametern abhängig (SCHWEIZER et al., 1994). Um Supraleiter mit den benötigten hohen Stromdichten zu erzielen, müssen die Berührungsflächen der als Körner im Gefüge enthaltenen Einzelkomponenten möglichst gross sein. Nur so kann der elektrische Strom die Korngrenzen widerstandsfrei

passieren. Die einzelnen Körner sind zwischen 20 und 200  $\mu\text{m}$  gross.

Um die Zusammensetzung der Legierungen, die Schmelz- und Wärmebehandlungsprozesse im Detail zu verstehen und zu optimieren, setzen die Forscher ausgeklügelte experimentelle Methoden und Computersimulationen ein. Sie führen beispielsweise feinste Temperaturfühler in die Werkstoffe ein. Dadurch können sie studieren, wie sich die einzelnen Komponenten während der Herstellungsprozesse verhalten. Weitere Informationen liefern aber auch Techniken wie Rasterelektronenmikroskopie und Röntgenbeugungsmethoden.

#### Praktische Nutzung in Reichweite

Die Wismut-Kuprat-Werkstoffe eröffnen neue Perspektiven für Anwendungen in der Elektrotechnik. Im Forschungszentrum der ABB in Baden-Dättwil wird zurzeit der Prototyp eines Supraleiter-Strombegrenzers mit der bisher weltweit höchsten Nennleistung von 100 Kilowatt getestet. Wie Ludwig Gauckler erklärte, könnten solche Strombegrenzer zum Beispiel in Lokomotiven die Funktion eines «Überlaufgefässes» übernehmen. Dadurch würden die elektrischen Einrichtungen vor zuviel Strom geschützt, wenn ein Gerät ausfällt. Bei der Weiterentwicklung und Optimierung des supraleitenden Materials arbeiten die ABB-Forscher eng mit den ETH-Wissenschaftlern zusammen.

#### Literatur

- HEEB, B., GAUCKLER, L.J., HEINRICH, H. & KOSTORZ, G. 1993. From imperfect to perfect  $\text{Bi}_2\text{Sr}_2\text{CaCu}_2\text{O}_x$  (Bi-2212) grains. – J. Mater. Res. 8, 2170–2176.
- SCHWEIZER, T., MÜLLER, R. & GAUCKLER, L.J. 1994. A wet-chemistry method to determine the Bi and Cu valencies in Bi-Sr-Ca-Cu-O (2212) high-temperature superconductors. – Physica C 225, 143–148.

#### DER EINBLICK INS GENOM VERLEIHT DER TIERZUCHT EINE NEUE DIMENSION

*Die Genkartierung ist ein wesentlicher Bestandteil der modernen Tierzuchtforschung. Im Rahmen eines international abgesprochenen Projektes arbeiten Wissenschaftler und Wissenschaftlerinnen des Instituts für Nutztierwissenschaften der ETH Zürich an der Lokalisierung von Genen auf den Rinderchromosomen. Um tierzüchterisch wichtige Gene aufzuspüren, müssen zunächst Marker kartiert werden. Dabei kann die Tierzuchtforschung vom schnell wachsenden Wissen über das menschliche Erbgut profitieren.*

Genkarten lassen sich nur innerhalb vernünftiger Zeitspannen realisieren, wenn die Forscher und Forscherinnen international zusammenarbeiten. Vor kurzem wurden zwei umfassende Genkarten des Rindes publiziert (BISHOP et al., 1994, BARENDSE et al., 1994). Daran wirkten auch zwei ETH-Forscher mit: Hans-Rudolf Fries, Privatdozent am Institut für Nutztierwissenschaften der ETH Zürich, und Sabina Solinas Toldo, Wissenschaftlerin am gleichen Institut.

Da ziemlich grosse Chromosomenabschnitte durch die Evolution hindurch konserviert worden sind, kann die Tierzuchtforchung beim Erstellen von Genkarten direkt vom Human-Genom-Projekt profitieren. Hans-Rudolf Fries hält es für wichtig, dass die Genome der landwirtschaftlichen Nutztiere vor allem vergleichend im Hinblick auf das menschliche Genom kartiert werden. So kann man das schnell wachsende Wissen über das menschliche Erbgut für die Erfassung und Lokalisierung von Erbanlagen bei den Nutztieren optimal nutzen.

Bis heute sind auf der Genkarte des Rindes allerdings kaum Gene aufgeführt, von denen man sicher weiss, dass sie mit Leistungseigenschaften zusammenhängen. Überhaupt weiss man noch sehr wenig über tierzüchterisch wichtige Gene. Während Erbfehler wie zum Beispiel die spinale Muskelatrophie oder die Spinnengliedrigkeit von einem Gen abhängen, sind Eigenschaften wie Fleischqualität oder Krankheitsresistenz sicher von mehreren Genen beeinflusst.

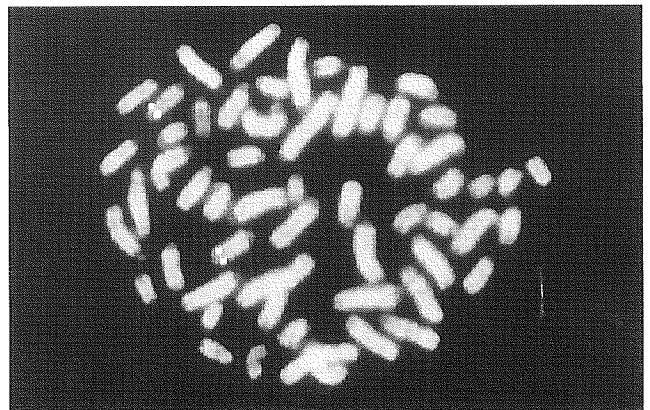
#### *Zwei verschiedene Wege*

Grundsätzlich gibt es zwei Möglichkeiten, mehr über die Gene wichtiger Eigenschaften des Rindes zu erfahren. Der eine Ansatz besteht darin, die Lebensvorgänge oder die Zusammensetzung tierischer Produkte zu analysieren, um auf diese Weise Schlüsselproteine zu identifizieren. Die entsprechenden Gene können dann mittels gentechnischer Methoden relativ einfach untersucht werden. Mit diesem Ansatz hat man beispielsweise herausgefunden, dass bestimmte Varianten des Gens für Prolaktin für eine hohe Milchleistung verantwortlich sind.

Beim anderen Vorgehen versuchen die Forscher und Forscherinnen, nicht näher charakterisierte Gene mit Hilfe von Markern zu kartieren. Diese Marker basieren auf natürlichen DNS-Varianten, die man zum Beispiel mit Hilfe von Restriktionsenzymen darstellen kann. Neuerdings wird dafür auch die DNS-Vermehrungstechnik (Polymerase chain reaction, abgekürzt PCR) verwendet.

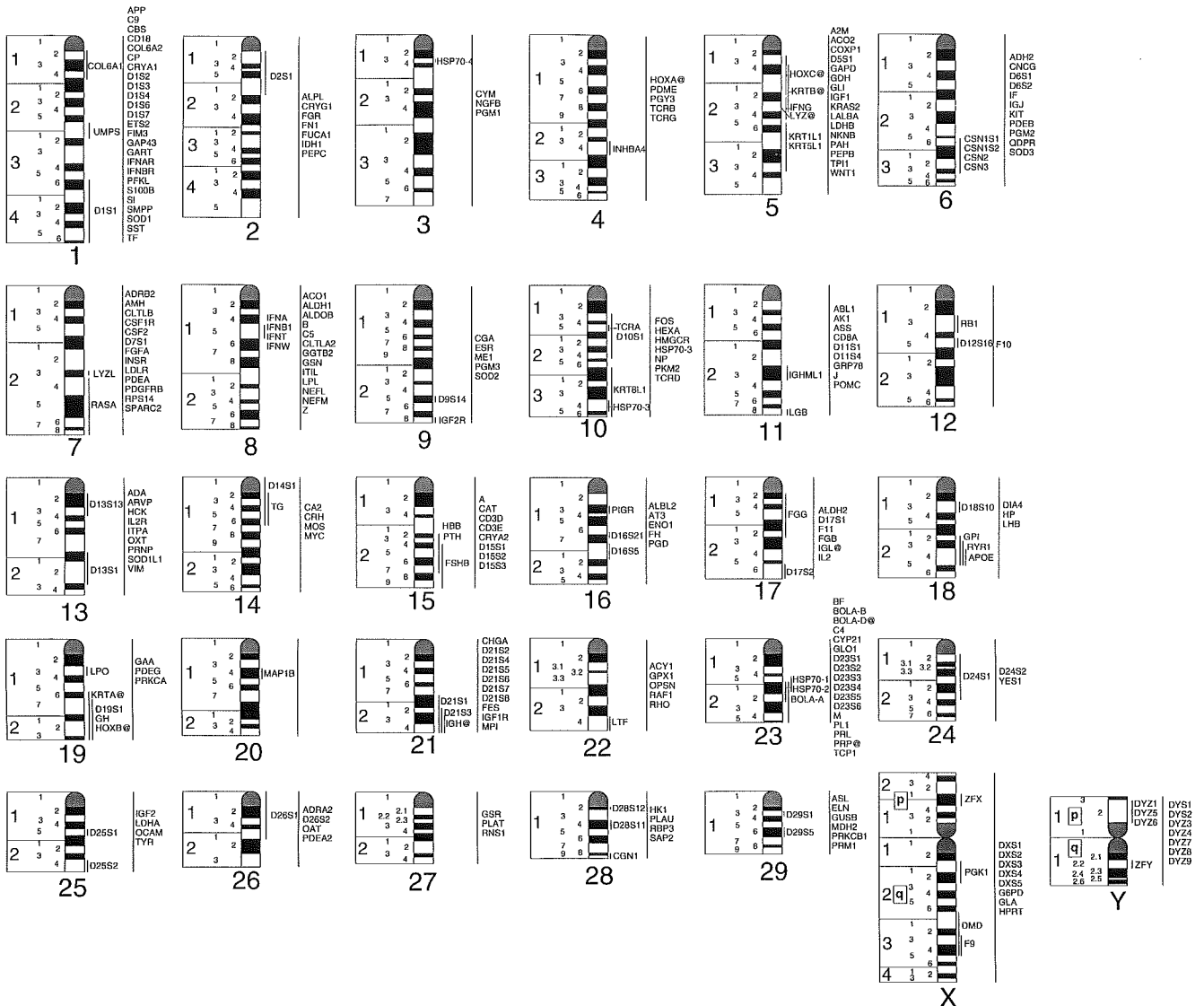
«Damit unbekannte Gene kartiert werden können, braucht es beim Rind ungefähr 100 auf den Rinderchromosomen gleichmässig verteilte Marker», erklärt Fries. Im Rah-

men des EG-Projektes «BovMap» und in Zusammenarbeit mit amerikanischen und australischen Organisationen befasst sich seine Arbeitsgruppe vor allem mit der Kartierung von Markern. «Wir stellen dabei fest, wo auf den 30 Chromosomenpaaren des Rindes die Marker lokalisiert sind, die uns von den Partnerlabors zur Verfügung gestellt werden.» Für die vergleichende Genomkartierung werden aber auch Gene auf die Rinderchromosomen zugewiesen, die beim Menschen ebenfalls kartiert worden sind. Aus dieser internationalen Zusammenarbeit heraus ist die umfassendste Genkarte des Rindes entstanden. «Zwar ist diese noch nicht so weit gediehen wie die Genkarten des Menschen und der Maus», erklärt Hans-Rudolf Fries. «Aber mit den bis jetzt kartierten Markern werden mindestens 90 Prozent des Rindergenoms abgedeckt.»



Lokalisierung eines Genortes auf den Rinderchromosomen mit Hilfe einer Biotin-markierten Sonde. Das Signal wird nach der Inkubation mit einem an Avidin gekoppelten Fluorochrom sichtbar (Bild: Sabina Solinas Toldo, ETH Zürich).

Mit Hilfe von DNS-Markern können zum Beispiel Krankheitsgene beim Rind kartiert werden. Dazu sind betroffene Familien nötig. In diesen Familien wird dann die Vererbung von rund 100 auf den Chromosomen gleichmässig verteilten Markern und der Erbfehler studiert. Wird ein Marker mit einem Erbfehler parallel vererbt, kann gefolgert werden, dass der Markerort und der Ort für den Erbfehler relativ nahe beieinander auf einem bestimmten Chromosom lokalisiert sind. Sobald die noch unbekanntene Gene auf den Chromosomen lokalisiert sind, werden sie molekulargenetischen Untersuchungen zugänglich. Die Nukleotidsequenz und damit die Aminosäuresequenz können ermittelt werden.



Genkarte des Rindes. Mit den bis heute kartierten Markern werden mindestens 90% des Rindengenoms abgedeckt (Bild: Hans-Rudolf Fries, ETH Zürich).

**Momentan noch Grundlagenforschung**

Welche praktische Bedeutung haben nun diese neuen Erkenntnisse für die Tierzucht? Gegenwärtig befindet sich die Wissenschaft noch klar in einer Phase, in der die Erarbeitung von Grundlagen im Vordergrund steht. Die Verleihung des Tiergesundheitspreises 1993 der Ciba an den Amerikaner James E. Womack – einen Pionier auf dem Gebiet der Kartierung von Rindengenomen – zeigt aber, dass man diese Arbeiten als sehr bedeutend für die Praxis einstuft.

Hans-Rudolf Fries ist überzeugt, dass ein vertiefter Einblick in das Genom der Nutztiere der Tierzucht eine neue Dimension verleihen wird. Durch Genanalysen kann der genetische Wert eines Einzeltieres besser abgeschätzt wer-

den. Gentechnische Veränderungen am Tier sind seiner Meinung nach nicht nötig.

**Literatur**

BARENDESE, W. et al., 1994. A genetic linkage map of the bovine genome. – *Nature Genet.* 6, 227–235.  
 BISHOP, M.D. et al., 1994. A genetic linkage map for cattle. – *Genetics* 136, 619–639.