

## **Begründungen zur Stellungnahme der ZKBS zum Einbringen rekombinanter DNA in Tiere vom Juli 94**

Auf der 13. Sitzung (9/94) des UA Vollzug/Fachfragen des Länderausschusses Gentechnik wurde die ZKBS aufgefordert,

- (i) die in der o.g. Stellungnahme geäußerte Auffassung, daß stabile Integration in Keimbahnzellen nach Einbringen rekombinanter DNA in Tiere nicht stattfindet, weitergehend zu begründen sowie
- (ii) den Abschnitt III der Stellungnahme eindeutiger zu formulieren und hier auch Tiere einzubeziehen, die nach Einbringen rekombinanter DNA Mikroorganismen der Risikogruppe 1 abgeben.

Zu (i) nimmt die ZKBS wie folgt Stellung:

Zu den in der Stellungnahme vom Juli 94 genannten Verfahren des Einbringens rekombinanter DNA in Tiere liegen bereits vorläufige Erkenntnisse vor, die Aussagen darüber erlauben, ob die eingebrachte DNA nur Zellen im Zielgewebe (z.B. Muskelzellen) trifft, ob auch andere Zellen betroffen sein können und ob die eingebrachte DNA stabil in die Chromosomen von Zellen integriert wird.

Von Wolff et al. wurde berichtet, daß rekombinante Plasmide nach Injektion in die Muskulatur von Mäusen episomal verbleibt und nicht in Chromosomen integriert. Dieselbe Beobachtung machten Acsadi et al. für Herzmuskulatur der Ratte. Mehrere Arbeitsgruppen stellten fest, daß Injektion in nicht-muskuläre Gewebe (z.B. Milz, Niere, Leber) von Nagern nicht zu messbarer Expression bzw. mindestens 100-1000x schwächerer Expression als im Muskel führte (siehe Fynan et al). Nach Injektion in die Epidermis von Mäusen verbleibt die eingebrachte DNA an der Injektionsstelle (Raz et al.). Untersuchungen darüber, ob nach Anwendung der o.g. Methoden auch Keimbahnzellen betroffen sind, liegen bisher nicht vor. Jedoch zeigten Vorversuche für genetische Therapieverfahren von Wagner et al., daß nach Einbringen von DNA-Polylysin-Adenoviruspeptid-Komplexen die eingeführte DNA in Keimbahnzellen nicht nachzuweisen ist.

Die o.g. experimentellen Befunde werden durch die Tatsache gestützt, daß bis heute als hinreichend effiziente Methode zur Erzeugung in der Keimbahn veränderter d.h. transgener Tiere ausschließlich die Injektion von DNA in befruchtete Oozyten existiert. Die Etablierung anderer Methoden war nicht erfolgreich. So konnte z.B. die von Lavitrano et al. publizierte Erzeugung transgener Mäuse durch Absorption von DNA durch Spermien nicht wiederholt werden, obwohl dieses von vielen Arbeitsgruppen versucht wurde (siehe z.B. Brinster et al.). Veröffentlichungen, die die Injektion rekombinanter DNA oder Beschießen von Tieren mit Goldpartikeln, die mit rekombinanter DNA beschichtet sind, als Verfahren zur Erzeugung transgener Tiere beschreiben, gibt es bis heute nicht, obwohl diese Methoden seit mindestens 5 Jahren bekannt sind.

Insgesamt ist bei Anwendung der o.g. Methoden bisher davon auszugehen, daß die Wahrscheinlichkeit der Weitergabe eingebrachter DNA durch die Versuchstiere zumindest sehr gering ist. Es liegen bisher keine Publikationen vor, die eine abweichende Annahme rechtfertigen. Im Übrigen hat die ZKBS in der Stellungnahme zum Einbringen rekombinanter DNA in Tiere festgestellt, daß Arbeiten, die die stabile Integration der eingebrachten DNA in Keimbahnzellen d.h. die Erzeugung transgener Tiere zum Ziel haben, als Verfahren der Veränderung genetischen Materials gemäß GenTG anzusehen sind. Hier wären theoretisch auch Versuchsansätze miteinzuschließen, bei denen rekombinante DNA direkt in die Gonaden von Tieren (z.B. durch Injektion oder Beschuß mit Goldpartikeln) eingebracht wird, da hier die Erzeugung transgener Tiere, falls nicht geplant, zumindest billiger in Kauf genommen wird.

Zu (ii): Absatz III besagt, daß das Einbringen rekombinanter viraler DNA in solche Tiere, die aufgrund von Infektion oder genetischer Veränderung Viren abgeben, unter Umständen die Entstehung

gentechnisch veränderter Viren erwarten läßt. Sinngemäß gilt das gleiche für das Einbringen rekombinanter bakterieller DNA in solche Tiere, die aufgrund von Infektion Bakterien abgeben. Die ZKBS hält eine Prüfung und Bewertung sicherheitsrelevanter Aspekte insbesondere in den Fällen für erforderlich, in denen die Entstehung neuer Organismen d.h. GVO der Risikogruppen 2 - 4 (z.B. Viren) zu erwarten ist. In Einzelfällen kann sich auch bei Entstehung von GVO der Risikogruppe 1 eine Bewertung sicherheitsrelevanter Aspekte durch die ZKBS als notwendig erweisen.

## Literatur

1. Acsadi, G., Jiao, S.S., Jani, A., Duke, D., Williams, P., Chong, W., and Wolff, J.A.  
Direct gene transfer and expression into rat heart in vivo.  
*NEW BIOLOGIST* 3:71-81, 1991.
2. Brinster RL; Sandgren EP; Behringer RR; Palmiter RD  
No simple solution for making transgenic mice (letter; comment)  
*CELL*, 59 (2) 239-41 /1989.
3. Fynan, E.F., Webster, R.G., Fuller, D.H., Haynes, J.R., Santoro, J.C., and Robinson, H.L. DNA vaccines: protective immunizations by parenteral, mucosal, and gene-gun inoculations.  
*PNAS* 90:11478-11482, 1993.
4. Lavitrano M; Camaioni A; Fazio VM; Dolci S; Farace MG; Spadafora C  
Sperm cells as vectors for introducing foreign DNA into eggs: genetic transformation of mice  
*CELL*, 57 (5) 717-23 /1989.
5. RAZ E; CARSON DA; PARKER SE; PARR TB; ABAI AM; AICHINGER G; GROMKOWSKI SH; SINGH M; LEW D; YANKAUCKAS MA; BAIRD SM; RHODES GH  
INTRADERMAL GENE IMMUNIZATION - THE POSSIBLE ROLE OF DNA UPTAKE IN THE INDUCTION OF CELLULAR-IMMUNITY TO VIRUSES  
*PNAS* 91:9519-9523,1994.
6. Wagner et al.  
Receptor mediated gene transfer: Synthetic virus-like gene delivery systems  
Arbeitskreis f. Zellbiologie und biomed. Forschung e.V. BMFT, GBF. Goslar Sept. 94
7. Wolff, J.A., Malone, R.W., Williams, P., Chong, W., Acsadi, G., Jani, A., and Felgner, P.L.  
Direct gene transfer into mouse muscle in vivo.  
*SCIENCE* 247:1465-1468, 1990.