

### 6. Zusammenfassung

Das Ziel vieler Studien ist die Generierung transgener Nutztiere. Für den Transfer der Fremd-DNA in die Eizelle wird hauptsächlich die Mikroinjektion angewendet. So gewonnene Embryonen werden in Leihmütter transferiert, jedoch entwickeln sich beim Rind nur aus ca. 1% der Embryonen ein lebendes, gesundes Kalb. Um die geringe Effizienz zu steigern, wurden andere Techniken entwickelt, unter anderem der Spermien-vermittelte Gentransfer (SMGT). Hierbei handelt es sich um eine Technik, bei der im einfachsten Fall durch Inkubation der Spermien mit DNA-haltigen Medien diese die fremde DNA bei der Befruchtung in die Eizellen tragen. Vorteile dieser Methode sind der geringe apparative Aufwand und die Tatsache, dass Gewinnung und Aufbewahrung der Spermien von Nutztieren gut etabliert sind.

Der Transfer von DNA in Zellen ist auf unterschiedlichen Wegen möglich, unter anderem durch Verwendung von Viren. Hierbei wird das natürliche Potenzial der Viren ausgenutzt, ihr Genom in Zellen einzuschleusen und sich dort zu replizieren.

In der vorliegenden Arbeit wird über die Herstellung von fusogenen Vesikeln berichtet, die in ihrer künstlichen Lipidhülle das Oberflächenprotein des Influenza Virus, Influenzahämagglutinin, tragen. Um die Virosomen zu optimieren, wurden verschiedene Schritte während des Rekonstitutionsprotokolls variiert und die Virosomen im Hinblick auf Lipid-, Protein- und DNA-Gehalt bewertet, sowie die Fusion der Virosomen mit kryokonservierten Bullenspermien und die Gentransferrate beurteilt.

Es konnte festgestellt werden, dass in den so hergestellten Virosomen nahezu ausschließlich Influenzahämagglutinin enthalten ist, dass der Hauptteil der Lipide in den Virosomen wiedergefunden werden kann und dass eine Zugabe von 6 mg Cholesterol auf 25,15 mg Gesamtlipid notwendig ist für die Fusion der Virosomen mit den Spermien. Werden Virosomen für verschiedene Zelltypen präpariert, scheint es notwendig zu sein, den Cholesterolgehalt der exogenen Lipide speziell auf die Zellart abzustimmen. Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass die so hergestellten Virosomen in der Lage sind, unabhängig vom Individuum, dem Reifestadium der Spermien oder der Spezies des Donorss mit Spermien zu fusionieren. Die Gentransferrate variiert zwischen 1,5 und 302 Plasmiden pro Spermienzelle. Zusammenfassend ist zu sagen, dass Influenzavirosomen eine Alternative bei der Generierung landwirtschaftlicher Nutztiere sein könnten.