

Zwierzchowski, Lech

Sprawozdanie z działalności Towarzystwa : Sprawozdania z działalności Wydziałów TNW : Wydział IV nauk biologicznych : Streszczenia : Niektóre możliwości zastosowania osiągnięć biologii molekularnej w hodowli zwierząt i w produkcji zwierzęcej

Rocznik Towarzystwa Naukowego Warszawskiego 53, 138-147

1990

Artykuł został zdigitalizowany i opracowany do udostępnienia w internecie przez Muzeum Historii Polski w ramach prac podejmowanych na rzecz zapewnienia otwartego, powszechnego i trwałego dostępu do polskiego dorobku naukowego i kulturalnego. Artykuł jest umieszczony w kolekcji cyfrowej bazhum.muzhp.pl, gromadzącej zawartość polskich czasopism humanistycznych i społecznych oraz w kolekcji mazowieckich czasopism regionalnych mazowsze.hist.pl.

Tekst jest udostępniony do wykorzystania w ramach dozwolonego użytku.

dnia 8 maja 1990 r. – Waldemar Roszkowski-Śliż: *Rola endogennej flory bakteryjnej dla prawidłowej funkcji układu immunologicznego*;

dnia 22 marca 1990 r. – Stefan Gumiński: *O wpływie właściwych regulatorów wzrostu i innych podobnie działających substancji na glony*;

dnia 12 czerwca 1990 r. – Zbigniew Jaczewski: *Sztuczne wywoływanie wielotykowości u jeleniowatych*;

dnia 7 listopada 1990 r. – Zbigniew Szykiewicz: *Krętki jelitowe *Treponema sp.* (brak tekstu)*;

dnia 11 grudnia 1990 r. – Bohdan Pisarski: *Kierunki ewolucji pasożytnictwa społecznego mrówek*.

Ponadto 23 stycznia 1990 r. członkowie Wydziału IV:

prof. dr Henryk Sandner (przewodniczący), prof. dr Bogdan Czaplński (członek), oraz kandydaci na członków Wydziału IV: prof. dr Teresa Pojmańska i prof. dr Katarzyna Niewiadomska wygłosili referaty na Ogólnym Zebraniu Interdyscyplinarnym Towarzystwa Naukowego Warszawskiego na temat: *Pasożytnictwo w przyrodzie*. Tytuły referatów w sprawozdaniu ogólnym TNW.

S T R E S Z C Z E N I A

Lech Zwierzchowski

NIEKTÓRE MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA OSIĄGNIĘĆ BIOLOGII MOLEKULARNEJ W HODOWLI ZWIERZĄT I W PRODUKCJI ZWIERZĘCEJ

Możliwości postępu genetycznego uzyskiwanego u zwierząt gospodarskich tradycyjnymi metodami selekcji są bliskie wyczerpania. Dlatego osiągnięcie dalszego znaczącego postępu wymaga rozwinięcia badań podstawowych z dziedziny biologii i genetyki molekularnej, embriologii, fizjologii i biochemii zwierząt gospodarskich. Zastosowanie metod i technik właściwych tym dziedzinom wiedzy zwykło się nazywać biotechnologią lub hodowlą molekularną (*molecular farming*). Jedną z najstarszych metod biotechnologicznych zastosowanych w hodowli zwierząt była sztuczna inseminacja. Kolejnym krokiem milowym w tej dziedzinie było opanowanie technik przenoszenia zarodków. Transfer zarodków i sztuczna inseminacja pozwalają na rozpowszechnienie w stadach zwierząt cennych genotypów, warunkujących korzystne dla człowieka cechy produkcyjne. Możliwości dalszego postępu w biotechnologii zwierząt domowych upatruje się w udoskonaleniu różnych technik manipulacji na zarodkach: dzieleniu zarodków na dwie lub więcej części, mrożeniu i witrifikacji zarodków, zapłodnieniu *in vitro*, uzyskiwaniu chimer międzyrasowych lub międzygatunkowych. Z drugiej strony, biotechnologia jest terminem utożsamianym w znacznym stopniu z technikami rekombinacji DNA i z tzw. inżynierią genetyczną. Ponieważ nici DNA różnych organizmów zbudowane są z tych samych podjednostek, a

kod genetyczny jest w znacznym stopniu uniwersalny, możliwe jest łączenie różnych odcinków DNA (genów) i ich przenoszenie nie tylko w obrębie gatunku, ale i pomiędzy gatunkami. Umożliwia to wytwarzanie zwierząt transgenicznych, czyli zwierząt, które „posiadają zintegrowany w swoim genomie obcy gen, wprowadzony za pomocą jednej z technik laboratoryjnych” (Westphal, 1987).

Opracowano kilka metod wprowadzania obcej informacji genetycznej do komórek zwierząt transgenicznych. Są to: (1) mikroiniekcja genów do zygot i wczesnych zarodków, (2) użycie retrowirusów jako wektorów niosących obcy gen lub (3) wykorzystanie do tego celu transformowanych obcym DNA totipotentnych komórek pnia (*stem cells*). Dotychczas tylko pierwsza z tych metod – mikroiniekcja genów – była z powodzeniem stosowana do uzyskiwania transgenicznych zwierząt gospodarskich. Polega ona na wstrzyknięciu kilkuset do kilku tysięcy kopii sklonowanego genu (w objętości jednego do kilku μl roztworu) do większego, męskiego przedjądrza zygoty ssaka lub, jak to ma miejsce u ryb, do cytoplazmy jednokomórkowego zarodka. Wstrzykiwanie DNA do męskiego przedjądrza zwiększa znacznie szanse integracji wstrzykiwanego genu do genomu zwierzęcia-biorcy. Trzeba jednak zaznaczyć, że integracja obcego genu jest procesem bardzo mało poznanym i przypuszczalnie całkowicie przypadkowym, co tłumaczy stosunkowo niski procent transgenicznych zwierząt uzyskiwanych z nastrzykniętych zarodków (około 10% u myszy i około 1% u zwierząt gospodarskich).

Osobnym zagadnieniem jest odpowiedni dobór genu do iniekcji. Dla biotechnologii jest rzeczą ważną, aby do transformacji zwierząt stosować geny warunkujące cechy korzystne z punktu widzenia człowieka. Niestety, najważniejsze cechy produkcyjne zwierząt, takie jak mleczność czy tempo wzrostu i mięsność, warunkowane są przez dziesiątki, a może i przez setki różnych genów, co w znacznym stopniu utrudnia celowe i świadome sterowanie tymi cechami za pomocą manipulacji genetycznych. Niemniej istnieją takie geny, których produkty mają znaczenie decydujące dla wystąpienia danej cechy. Są to np. geny kazein, decydujące o składzie białek mleka, czy gen hormonu wzrostu, decydujący o tempie wzrostu młodego zwierzęcia.

Jednym z pierwszych problemów, jaki próbuje się rozwiązać za pomocą technik transferu genów, jest zwiększenie tempa wzrostu zwierząt. Tempo wzrostu młodych zwierząt, wykorzystanie paszy i konwersja jej na cenne składniki tuszy zwierzęcia (mięso) są jednym z podstawowych problemów, przed jakimi staje rolnictwo. Wiadomo już od dość dawna, że iniekcja naturalnego lub rekombinowanego¹ hormonu wzrostu zwiększa tempo wzrostu prosiąt i cieląt, poprawia wykorzystanie paszy i zwiększa zawartość mięsa w tuszy (Quirke i Schmid, 1988). Przypuszcza się, że ten sam efekt będzie można osiągnąć dzięki zwierzętom transgenicznym, wyposażonym we własny lub obcy gatunkowo gen hormonu wzrostu (GH), połączony z promotorem innego genu, warunkującym zwiększoną ekspresję. Tego typu doświadczenia przeprowadzono z powodzeniem w wielu laboratoriach na zwierzętach modelowych, głównie myszach, a

pionierami tych badań byli uczeni amerykańscy – R.D. Palmiter, R.E. Hammer, R.L. Brinster i in. W swoich doświadczeniach wykorzystali oni konstrukcje genowe zbudowane z promotora genu metalotioneiny (MT) i genu struktury ludzkiego, bydłowego lub szczurzego GH (Palmiter i wsp., 1982; Palmiter i wsp., 1983; Hammer i wsp., 1986). Promotor metalotioneiny zapewniał wydajną ekspresję podłączonego genu GH w różnych typach komórek i tkanek (głównie w komórkach wątroby), którą to ekspresję można było dodatkowo zwiększyć, podając zwierzęciu w wodzie pitnej roztwory soli metali ciężkich – cynku lub kadmu. Takie myszy transgeniczne rosły znacznie szybciej niż kontrolne, osiągając w wieku 4 miesięcy masę ciała 40-60 g, a więc 2-3-krotnie wyższą niż normalnie (Brem, 1989). Niektóre z transgenicznych myszy przekazywały obcy gen swojemu potomstwu, które również wykazywało zwiększone tempo wzrostu. Podobny efekt przyspieszonego wzrostu uzyskano stosując do transformacji zwierząt gen czynnika uwalniającego hormon wzrostu (GRF). Myszy transgeniczne wyposażone w konstrukcję mMT-hGRF (promotor mysiej MT z genem struktury ludzkiego GRF) rosły również znacznie szybciej niż kontrolne, a ponadto nie wykazywały zaburzeń rozrodu, jakie obserwuje się u myszy z obcym genem GH (Hammer i wsp., 1985B).

Te rewelacyjne wyniki uzyskane na myszach zrodziły nadzieje na osiągnięcie równie szybkiego postępu u innych zwierząt, w tym również zwierząt gospodarskich. Gdyby podobne efekty fenotypowe udało się uzyskać transformując genami GH lub GRF np. świnie lub bydło, to przyspieszony wzrost, lepsze wykorzystanie paszy i większa zawartość mięsa w tuszy zwierząt transgenicznych mogłyby przyczynić się do znacznego zwiększenia i potanienia produkcji mięsa. Próby uzyskania transgenicznych zwierząt gospodarskich prowadzone są w licznych laboratoriach, głównie w instytutach rolniczych. W tabeli I zebrano dane o doświadczeniach, w których uzyskano integrację lub integrację i ekspresję genu GH lub GRF u transgenicznych zwierząt o znaczeniu gospodarczym. Również i w naszym laboratorium uzyskaliśmy transgeniczne króliki niosące gen hGRF z promotorem mMT oraz transgeniczne króliki i karpie z genem hGH połączonym z promotorem aktywności X. laveis (Rosochacki i wsp., 1990; Zwierzchowski i wsp., dane nie publikowane).

Tylko w nielicznych przypadkach autorzy donoszą o wpływie ekspresji obcego genu GH lub GRF na tempo wzrostu (Vize i wsp., 1988) oraz na skład tuszy i wykorzystanie paszy (Pursel i wsp., 1989) przez transgeniczne świnie. Z pięciu uzyskanych przez nas transgenicznych królików niosących gen hGRF jeden wykazywał znacznie przyspieszone tempo wzrostu (Rosochacki i wsp., 1990). Nie ma jednak pewności, czy ten szybki wzrost spowodowany był funkcjonowaniem obcego genu.

Specyfika rozrodu ryb powoduje, że są one wdzięcznym obiektem do badań nad transferem genów. Jednakże u większości transgenicznych ryb niosących gen GH nie udało się wykazać jego ekspresji (Chourrot i wsp., 1986). Ekspresję genu hGH i przyspieszony wzrost udało się uzyskać u transgenicznych piskorz

(Zhu i wsp., 1986). Jednak fragmentaryczne dane o szybko rosnących transgenicznych karpach, jakie pojawiają się w prasie i czasopismach popularnonaukowych, nie wydają się dostatecznie udokumentowane.

Drugim, obok mięsa, najpowszechniej spożywanym pokarmem białkowym jest mleko. Statystyki wykazują, że w niektórych krajach mleko i jego przetwory dostarczają około 30% białka spożywanego przez ludzi. Produkcja mleka, chociaż pozornie nadmierna w krajach wysoko rozwiniętych gospodarczo, w skali globalnej jest niewystarczająca i jej zwiększenie, wobec wciąż wzrastającej liczby ludzi, jest jednym ze strategicznych zadań rolnictwa. Teoretycznie można sobie wyobrazić co najmniej kilka możliwości zastosowania biotechnologii (biologii molekularnej) do sterowania wydajnością mleczną zwierząt oraz wpływu na skład mleka i jego przydatność dla przemysłu przetwórczego. Jedną z tych możliwości, hormonalna stymulacja laktacji, jest już bliska praktycznego zastosowania. Wstrzykując rekombinacyjny bydlęcy hormon wzrostu (BST) można uzyskać wzrost wydajności mlecznej krów o 20-30%, bez zwiększonego zużycia paszy (Johnsson i Hart, 1986). Rekombinacyjny hormon wzrostu jest obecnie wytwarzany za pomocą bakterii *E. coli*, transformowanych genem BST, i dostępny po stosunkowo niskich cenach.

Przypuszcza się, że podobny efekt będzie można uzyskać trwale transformując zwierzęta mleczne, np. krowy własnym lub obcym gatunkowo genem hormonu wzrostu lub genem GRF. Tego typu zwierzęta transgeniczne uzyskano już w kilku laboratoriach (tabela I), jednakże, o ile wiadomo, nikt dotychczas nie prowadził badań nad wpływem zwiększonej ekspresji genu GH lub genu GRF u zwierząt transgenicznych na ich wydajność mleczną.

W ciągu ostatnich 10 lat nastąpił znaczny postęp w badaniach nad budową i regulacją ekspresji genów białek mleka (Zwierchowski, 1987 i literatura tam cytowana). Wiele z tych genów zostało wyizolowanych, sklonowanych i zsekwencjonowanych (tabela II). Przypuszcza się, że ta teoretyczna wiedza na temat budowy i funkcjonowania genów białek mleka może w niedalekiej przyszłości przynieść wymierne korzyści praktyczne. W tabeli III zebrano, zaproponowane przez różnych autorów (Mercier, 1986; Lathe i wsp., 1986; Jimenez-Flores i Richardson 1988; Clark i wsp., 1987), możliwości inżynierii genów białek mleka. Mają one na celu wprowadzenie, poprzez manipulacje genetyczne, korzystnych z punktu widzenia człowieka zmian w składzie mleka krów lub innych zwierząt mlecznych. Niektóre z tych możliwości zostały już zrealizowane, przynajmniej na skalę eksperymentalną. Doświadczenia przeprowadzone na myszach jako zwierzętach modelowych wykazały, że stosując technikę transferu genów można doprowadzić do zamierzonych zmian w składzie białek mleka. W laboratoriach A.J. Clarka w Instytucie Fizjologii i Genetyki Zwierząt AFRC w Edynburgu uzyskano myszy transgeniczne transformowane genem owczej beta-laktoglobuliny, białka, które nie występuje w mleku gryzoni (Simons i wsp., 1987). Gen owczego białka wstrzyknięto do wczesnych zarodków myszy. Niektóre z uzyskanych w ten sposób transgenicznych myszy wytwarzały

w gruczole mlecznym i wydzielają z mlekiem znaczne ilości owczej beta-laktoglobuliny, co świadczy o specyficznej tkankowo i zależnej od hormonów ekspresji wprowadzonego genu. Podobną technikę doświadczeń zastosowali Lee i wsp. (1988) z Baylor College of Medicine w Houston, uzyskując myszy transgeniczne produkujące w mleku szczurzą kazeinę-beta, oraz Vilotte i wsp. (1989) z Centrum Badawczego INRA w Jouy-en-Josas transformując myszy bydłym genem alfa-laktoalbuminy. Przeprowadzono również wstępne doświadczenia zmierzające do wprowadzenia ukierunkowanych zmian w sekwencji nukleotydowej (*site directed mutagenesis*) genu kazeiny-kappa bydła (Oh i Rochardson, 1988).

Obniżenie zawartości laktozy w mleku krowim byłoby korzystne dla ludzi, którzy, ze względu na brak w przewodzie pokarmowym enzymu laktazy (beta-galaktozydazy), nie tolerują laktozy w pożywieniu. Zakłada się, że cel ten można osiągnąć dwoma sposobami. Dr J-C. Mercier z Centrum Badawczego INRA w Jouy-en-Josas proponuje wprowadzenie do komórek krów mlecznych „antysensownego” genu alfa-laktoalbuminy, którego produkt, antysensowne mRNA, winien zablokować odpowiednie mRNA czyniąc je niezdatnym dla translacji (Mercier, 1986). Innym sposobem na obniżenie zawartości laktoza w mleku byłoby wprowadzenie do komórek zwierząt mlecznych bakteryjnego genu LacZ, którego produkt – beta-galaktozydaza – rozkładałby laktozę w komórkach gruczołu mlecznego na obojętne dla zdrowia monosacharydy – glukozę i galaktozę. Taki eksperyment na zwierzętach modelowych – królikach – przeprowadzono w Instytucie Hodowli Zwierząt ETH w Zurichu (D.F. Went, informacja osobista). Wstępne wyniki doświadczenia wskazują na to, że zwierzęta transgeniczne transformowane genem LacZ *E. coli* z promotorem genu króliczej kazeiny-beta mają niższą od kontrolnych zawartość laktozy w mleku i że pojawia się w nim produkt hydrolizy laktozy – galaktoza.

Pomysł wykorzystania zwierząt transgenicznych jako tanich producentów cennych białek ludzkich o znaczeniu leczniczym przedstawili po raz pierwszy Lathe i wsp. (1986). Cel ten można osiągnąć poprzez skonstruowanie i wprowadzenie do komórek zwierząt mlecznych – krów, owiec lub kóz – genów hybrydowych zbudowanych z genów struktury genów ludzkich i promotorów genów białek mleka. Również i w tym kierunku przeprowadzono już udane doświadczenia. W laboratorium A.J. Clarka w Edynburgu uzyskano transgeniczne owce wytwarzające w gruczole mlecznym ludzkie białka – alfa-antytrypsynę i IX czynnik krzepnięcia krwi. Do transformacji zwierząt użyto gen owczej beta-laktoglobuliny, do którego, w obrębie pierwszego eksonu, wprowadzono cDNA ludzkich białek. Poprzez iniekcję tej konstrukcji genowej do zygot owczych uzyskano transgeniczne owce, które pod kierunkiem promotora beta-laktoglobuliny wytwarzały i wydelały z mlekiem niewielkie (kilka ng/ml mleka) ilości ludzkich białek (Simons i wsp., 1988; Clark i wsp., 1989). W innym doświadczeniu, przeprowadzonym w laboratorium Henninghausena w N.I.H. w Bethesda, uzyskano transgeniczne myszy transformowane genem ludzkiego aktywatora plazminogenu połączonym z promotorem WAP myszy (Gordon i

wsp., 1987; Pittus i wsp., 1988). Myszy te wydzielają z mlekiem znaczne ilości ludzkiego białka. Podobnie tkankowo-specyficzną ekspresję genu hybrydowego, utworzonego przez połączenie promotora kazeiny-beta królika z genem struktury ludzkiej interleukiny-2, uzyskali Büchler i wsp. (1990). Białka, których geny użyto w tych doświadczeniach do transformacji zwierząt, są stosowane jako leki w medycynie ludzkiej. Przypuszcza się więc, że w niedalekiej przyszłości możliwe będzie uzyskiwanie tych i innych białek leczniczych w mleku zwierząt transgenicznych.

Bliskie praktycznego zastosowania wydają się być wyniki badań nad polimorfizmem genetycznym DNA w odniesieniu do genów białek mleka. Wykazano, że występowanie niektórych wariantów genetycznych kazein może być związane z ilościowymi różnicami w składzie mleka przeżuwaczy i z różną przydatnością mleka do przerobu na sery (Grosclaude, 1988). Stwierdzono np., że mleko krów posiadających wariant B kazeiny-kappa (genotyp BB) tworzy strąk kazeinowy pod działaniem chymozyny (podpuszczki) znacznie szybciej niż mleko krów o genotypie AA lub AB. Co więcej, powstały strąk jest twardszy i zawiera więcej białek i tłuszczów, co ma kapitalne znaczenie w produkcji serów. Opracowana niedawno technika badania polimorfizmu genetycznego DNA metodą RFLP (restriction fragments length polymorphism) pozwala na identyfikację genotypu kazeiny-kappa bydła u zwierząt obu płci – krów i buhajów – w każdym wieku po urodzeniu, a nawet przed urodzeniem (Eggen i Freis, 1989; Medrano i Aguilar-Cordova, 1990); metoda ta pozwala nawet na określenie genotypu nieżyjących już buhajów na podstawie analizy DNA wyizolowanego z zamrożonego nasienia. Dzięki temu możliwe jest uwzględnienie polimorfizmu genetycznego białek mleka w programach hodowlanych i w doskonaleniu bydła.

Podsumowując, można stwierdzić, że możliwości zastosowania metod biologii molekularnej (inżynierii genetycznej) w hodowli i doskonaleniu zwierząt wydają się obecnie znacznie większe i bliższe w perspektywie czasu, niż można było przypuszczać kilka lat temu. Świadczyć o tym może znaczny postęp, jaki poczyniono ostatnio w badaniach nad budową, ekspresją i inżynierią genów zwierzęcych. Dla postępu w produkcji mleczarskiej bardzo istotne wydają się być dalsze badania nad budową i inżynierią genów białek mleka, a także inżynierią genów uczestniczących w wytwarzaniu innych składników mleka – tłuszczów i laktozy. Zastosowanie metod biotechnologicznych dla zwiększenia produkcji mięsa może w znacznym stopniu zależeć od postępu w opracowywaniu i wprowadzaniu do genomu zwierząt nowych konstrukcji genowych, np. konstrukcji utworzonych z genów GH, GRF lub tkankowych czynników wzrostowych wyposażonych w promotory warunkujące zwiększoną, lecz kontrolowaną ekspresję podłączonych genów.

Piśmiennictwo

1. Alexander, L.J., Steward, A.F., Mackinlay, A.G., Kapelinskaya, T.V., Tkach, T.N. and Gorodetsky, S.I. (1988) *Eur. J. Biochem.* 179, 395.

2. Ali, S. and Clark, A.J. (1988) *J. Mol. Biol.* 199, 415.
3. Brem, G., Brenig, B., Goodman, H.N., Selden, R.C., Graf, F., Kruff, B., Springman, K., Hondele, J., Meyer, J., Winnacker, E-L. and Krausslich, H. (1985) *Zuchthygiene* 20, 251.
4. Brem, G., Wanke, R., Wolf, E., Buchmuller, T., Muller, M., Brenig, B. and Hermanns, W. (1989) *Mol. Biol. Med.* 6, 531.
5. Büchler, T.A., Bruyere, T., Went, D.F., Stranzinger, G., and Bürki, K. (1990) *Bio/Technology* 8, 140.
6. Campbell, S.M., Rosen, J.M., Henninghausen, L.G., Strech-Jurk, U. and Sippell, A.E. (1984) *Nucl. Ac. Res.* 12, 8685.
7. Chen, H.Y., Garber, E.A., Rosenblum, C.I., Taylor, J.E., Kopchick, J.J., Smith, R.G., Smith, J. and Mills, E.O. (1989) *J. Cell. Biochem. Suppl.* 13B. *UCLA Symp. Mol. Cell. Biol.* p. 178.
8. Chourrot, D., Guyomard, R. and Houdebine, L-M. (1986) *Aquaculture* 51, 143.
9. Clark, A.J., Bessos, H., Bishop, J.O., Brown, P., Harris, S., Lathe, R., McClenaghan, M., Prowse, C., Simons, J.P., Whitelaw, C.B.A. and Wilmut, I. (1989) *Bio/Technology* 7, 487.
10. Clark, A.J., Simons, J.P., Wilmut, I. and Lathe, R. (1987) *TIBTEC* 5, 20.
11. Devinoy, E., Hubert, C., Jolivet, G., Thepot, D., Clergue, N., Desaleaux, M., Dion, M., Servely, J-L and Houdebine, L-M. (1988) *Reprod. Nutr. Develop.* 28, 1145.
12. Eggen, A. and Fries, R. (1989) *Landwirtschaft Schweiz, Band.* (4), 231.
13. Gill, J.A., Sumpter, J.P., Donaldson, E.M., Dye, H.M., Souza, L., Berg, T., Wypych, J. and Langley, K. (1985) *Bio/Technology* 3, 643.
14. Gordon, K., Lee, E., Vitale, J.A., Smith, A.E., Westphal, H. and Henninghausen, L. (1987) *Bio/Technology* 5, 1183.
15. Gorodetsky, S.I., Tkach, T.M. and Kapelinskaya, T.V. (1988) *Genetika* 24, 791.
16. Grosclaude, F. (1988) *INRA Prod. Animal* 1, 5.
17. Guyomard, R., Chourrot, D., Leroux, C., Houdebine, L-M. and Pourrain, F. (1989) *Biochimie* 71, 857.
18. Hall, L. Emery, D.C., Davies, M.S., Parker, D. and Craig, R.K. (1987) *Biochem. J.* 242, 735.
19. Hammer, R.E., Brinster, R.L. and Palmiter, R.D. (1985A) *Cold Spring Harbor Quant. Biol.* 50, 379.
20. Hammer, R.E., Brinster, R.L., Rosenfeld, M.G., Evans, R.M. and Mayo, K.E. (1985B) *Nature*, 315, 413.
21. Hammer, R.E., Pursel, V.G., Rexroad, C.E., Wall, R.J., Bolt, D.J., Ebert, K.M., Palmiter, R.D. and Brinster, R.L. (1985C) *Nature* 315, 680.
22. Hammer, R.E., Pursel, V.G., Rexroad, C.E., Wall, R.J., Bolt, D.J., Palmiter, R.D. and Brinster, R.L. (1986) *J. Anim. Sci.* 63, 269.
23. Jimenez-Flores, R. and Richardson, T. (1988) *J. Dairy Sci.* 71, 2640.
24. Johnsson, D. and Hart, I.C. (1986) *Rec. Adv. Anim. Nutr.*, Eds. Heresign, W. and Cole, D.J.A., Butterworths, London, p. 105.
25. Jones, W.K., Yu-Lee, L., Clift, S.M., Brown, T.L. and Rosen, J.M. (1985) *J. Biol. Chem.* 260, 7042.

26. Lathe, R., Clark, A.J., Archibald, A.L., Bishop, J.O., Simons, P. and Wilmut, I. (1986) Exploiting New Technologies in Animal Breeding: Genetic Developments. Eds. Smith, C. et al., Ox. University Press, p. 91.
27. Lee, K-F., DeMayo, J., Atiee, S.H. and Rosen, J.M. (1988) Nucl. Ac. Res. 16, 1027.
28. Maclean, N., Penman, D. and Zhu, Z. (1987) Bio/Technology 5, 257.
29. Medrano, J.F. and Aguilar-Cordova, E. (1990) Bio/Technology 8, 144.
30. Mercier, J-C. (1986) Exploiting New Technologies in Animal Breeding: Genetic Developments. Eds. Smith, C. et al., Oxford University Press, p. 122.
31. Murray, J.D., Nancarrow, C.D., Marshall, J.T., Hazelton, J.G. and Ward, K.A. (1989) Reprod. Fert. Develop. 1, 147.
32. Oh, S.S. and Richardson, T. (1988) ADSA Ann. Meet., University of Alberta, p. 97.
33. Palmiter, R.D., Brinster, R.L., Hammer, R.E., Trumbauer, M.E., Rosenfeld, M.G., Brinberg, N.C. and Evans, R.M. (1982) Nature 300, 611.
34. Palmiter, R.D., Norstedt, G., Gelinis, R.E., Hammer, R.E. and Brinster, R.L. (1983) Science 222, 809.
35. Pittus, C.W., Henninghausen, L., Lee, E., Westphal, H., Nicols, E., Vitale, J. and Gordon, K. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85, 5874.
36. Pursel, V.G., Pinkert, C.A., Miller, K.F., Bolt, D.J., Campbell, R.G., Palmiter, R.D., Brinster, R.L. and Hammer, R.E. (1989) Science 244, 1281.
37. Quasba, P.K. and Safaya, S.K. (1984) Nature 308, 377.
38. Quirke, J.F. and Schmid, H. (1988) Proc. VI World Conf. on Animal Production, Helsinki, p. 16.
39. Rokkones, E., Alestrom, P., Skjervold, H. and Gustavik, K.M. (1989) J. Comp. Physiol. B. 158, 751.
40. Rosochacki, S.J., Kozikova, L., Jefimov, A., Sadowska, J., Smirnov, A. and Zwierzchowski, L. (1990) 5th Int. Symp. „Biological and Technical Intensification of Production and Increase of Animal Products Quality, Nitra, p. 57.
41. Schneider, J.F., Hallerman, E.M., Yoon, S.J., He, L., Myster, S.H., Gross, M., Liu, Z., Zhu, Z., Hackett, P.B., Guise, K.S., Kapuściński, A.R. and Faras, A.J. (1989) J. Cell. Biochem. Suppl. 13B, UCLA Symp. Mol. Cell. Biol., p. 173.
42. Simons, J.P. McClenaghan, M. and Clark, A.J. (1987) Nature 328, 530.
43. Simons, J.P., Wilmut, I., Clark, A.J., Archibald, A.L., Bishop, J.O. and Lathe, R. (1988) Bio/Technology 6, 179.
44. Vilotte, J-L., Soulier, S., Mercier, J-C., Gaye, P., Hue-Delahaie, D. and Furet, J.P. (1987) Biochimie 69, 609.
45. Vilotte, J-L., Soulier, S., Stinnakre, M-G., Massoud, M. and Mercier, J-C. (1989) Eur. J. Biochem. 186, 43.
46. Vize, P.D., Michalska, A.E., Ashman, R., Llyod, B., Stone, B.A., Quinn, P., Wells, J.R.E. and Seamark, R.F. (1988) J. Cell. Sci. 90, 295.
47. Westphal, H. (1987) BioEssays 6, 73.
48. Yoshimura, M. and Oka, T. (1989) Gene 78, 267.
49. Yu-Lee, L., Richter-Mann, L., Couch, C.H., Steward, A.F., Mackinlay, A.G. and Rosen, J.M. (1986) Nucl. Ac. Res. 14, 1883.
50. Yu-Lee, L. and Rosen, J.M. (1983) J. Biol. Chem. 258, 10794.

51. Zhu, Z., Xu, K., Li, G., Xie, Y. and He, L. (1986) *Kexue Tongbao Acad. Sinica* 31, 988.
 52. Zwierzchowski, L. (1987) *Hormonalna Regulacja Ekspresji Genów Białek Mleka*. Praca habilitacyjna. Ossolineum, Wrocław.

Przypis:

¹ Hormon wzrostu wytwarzany przez zrekombinowane bakterie.

Tabela I. Transgeniczne zwierzęta gospodarskie niosące geny GH lub GRF

Gen ¹	Gatunek	Piśmiennictwo
s/s/a/k/i		
mMT-hGH	świnia, owca, królik	Hammer i wsp., 1985C
hMT-hGH	królik	Hammer i wsp., 1985A
mMT-hGH	świnia, królik	Brem i wsp., 1985
mMT-bGH/mMT-hGRF/ mA-hGRF	świnia	Pursel i wsp., 1989
oMT-oGH	owca	Murray i wsp., 1989
hMT-pGH	świnia	Vize i wsp., 1988
p/t/a/k/i		
mMT-bGH	kura	Chen i wsp., 1989
r/y/b/y		
mMT-rGH/hGH	pstrąg, piskorz, karp	Mclean i wsp., 1987
chGH/bGH	łoś	Gill i wsp., 1985
pMT-hGH/pMT-rGH/SV-rGH	pstrąg	Guyomard i wsp., 1989
SV-bGH	szczupak	Schneider i wsp., 1989
hGH	pstrąg, łoś	Rokkones i wsp., 1989

1 Promotory genów metalotioneiny myszy (mMT), człowieka (hMT), owcy (oMT) lub świni (pMT); promotor mysiej albuminy (mA); promotor wirusa sarkomy (SV); geny struktury hormonu wzrostu człowieka (hGH), bydła (bGH), owcy (oGH), szczura (rGH), kury (chGH); gen ludzkiego czynnika uwalniającego hormon wzrostu (hGRF).

Tabela II. Sklonowane i scharakteryzowane geny białek mleka

Gen	Gatunek zwierzęcia	Długość genu pz x 10 ⁻³	Liczba eksonów	Piśmiennictwo
Kazeina-γ	szczur	15	9	Yu-Lee i Rosen, 1983
Kazeina-β	szczur	7,2	9	Jones i wsp., 1985
Kazeina-α	szczur	10-15	9	Yu-Lee i wsp., 1986
Kazeina-β	królik	11	9	Devinoy i wsp., 1988
Kazeina-β	bydło	8,6	9	Gorodetsky i wsp., 1988
Kazeina-κ	bydło	12,5	5	Alexander i wsp., 1988
Kazeina-β	mysz	6,8	9	Yoshimura i Oka, 1989
WAP*	mysz	3,3	4	Campbell i wsp., 1984
WAP*	szczur	2,8	4	Campbell i wsp., 1984
α-laktoalbumina	szczur	2,5	4	Quasba i Safaya, 1984
α-laktoalbumina	człowiek	2,5	4	Hall i wsp., 1987
α-laktoalbumina	bydło	3,1	4	Vilotte i wsp., 1987
β-laktoalbumina	owcz	4,9	7	Ali i Clark, 1988

* kwaśne białko serwatki (*Whey Acidic Protein*).

Tabela III. Możliwości inżynierii genów białek mleka.

Manipulacje genetyczne	Spodziewany efekt	Spodziewane korzyści
Wprowadzenie dodatkowych genów kazein lub innych białek mleka	Nadprodukcja określonych białek	Zwiększenie stabilności mleka w podwyższonych temperaturach (kazeina-kappa) Poprawa właściwości produktów mleczarskich (serów) i właściwości odżywczych mleka
Ukierunkowana mutagenеза genów kazein	Zmiana struktury I-rzędowej kazein	
Ukierunkowana mutagenеза genu α-laktoalbuminy Wprowadzenie genu β-galaktazydy	Obniżenie zawartości laktozy w mleku	
Wprowadzenie genów hybrydowych zawierających promotory genów białek mleka i geny struktury białek ludzkich	Tkankowo-specyficzna ekspresja ludzkich białek w gruczole mlecznym	Produkcja ludzkich białek o znaczeniu leczniczym w mleku zwierząt transgenicznych