

Transgeniczne świnie; uzyskiwanie oraz genetyczne modyfikacje

Zdzisław Smorąg¹

Jacek Jura¹

John J. Kopchick²

Barbara Gajda¹

Maria Skrzyszowska¹

Marian Różycki³

Jarosław Pasięka⁴

¹Zakład Fizjologii Rozrodu Zwierząt

Instytut Zootechniki

Balice k. Krakowa

²Edison Biotechnology Institute

Ohio University

Athens, Ohio

³Zakład Hodowli Trzody Chlewnej

Instytut Zootechniki

Balice k. Krakowa

⁴Zootechniczny Zakład Doświadczalny

Grodziec Śląski

1. Wstęp

Świnia z wielu powodów jest szczególnie atrakcyjnym obiektem transgenicznych modyfikacji. Wynika to zarówno z jej cech rozrodczych, jak i innych cech fizjologicznych. Wśród dużych zwierząt gospodarskich okres ciąży u świni jest stosunkowo krótki, bo wynosi niespełna 4 miesiące, również krótka jest przerwa międzypokoleniowa, bo wynosząca ok. 12 miesięcy. Inną cenną cechą rozrodczą świń jest duża plenność; przeciętna wielkość miotu wynosi ok. 10 prosiąt. Jednocześnie takie cechy jak ilość produkowanego mleka, czy wielkość organów sprawiają, że transgeniczna świnia może być użyta do produkcji farmaceutyków lub jako zwierzę modelowe do badań mechanizmów powstawania chorób człowieka czy innych celów medycznych, np. jako dawca organów do ksenotransplantacji.

W pracy przedstawione będą metody uzyskiwania transgenicznych świń z uwzględnieniem wieloletnich doświadczeń autorów. Ponadto zaprezentowane zostaną kierunki i dotychczasowe efekty transgenicznych modyfikacji świń.

2. Uzyskiwanie transgenicznych świń

U świń praktycznie jedyną metodą uzyskiwania transgenicznych osobników jest wprowadzanie egzogenego DNA do genomu zygot. Procedura ta składa się z kilku etapów, których końcowym efektem jest urodzenie (potencjalnie) transgenicznego prosięcia.

2.1. Superowulacja i uzyskiwanie zygot

Powszechnie przyjętą metodą pozyskiwania zygot świńskich do mikroiniekcji egzogenego DNA jest stymulacja hormonalna loszek oraz poubojowe wypłukiwanie zygot. Dawcami zygot są na ogół loszki w wieku 6-8 miesięcy o wadze ciała od 80 do 120 kg. Konieczność dysponowania zarodkami o ściśle określonym rozwoju pociąga za sobą potrzebę precyzyjnej kontroli owulacji. Wynika stąd potrzeba zastosowania odpowiednich metod synchronizacji. U loszek wykazujących już cykle rujowe używa się do tego celu progestagenu (np. Altronogestu) podawanego przez 15-19 dni lub można też stosować inne warianty (1). Po zaprzestaniu podawania progestagenu samice są poddawane superowulacji przy użyciu gonadotropin (PMSG+HCG). W ten sam sposób superowulacja może też być wywoływana u dojrzałych płciowo loszek o znanym przebiegu cyklu rujowego. Wówczas w 16 dniu cyklu zwierzęta otrzymują 1500 jm PMSG, a 3 dni później 500 jm HCG (2). Superowulację u niedojrzałych płciowo loszek uzyskuje się podając w dowolnym terminie ok. 1500 jm PMSG, a po 3 dniach HCG. Po upływie 24 h od podania HCG loszki są kryte lub inseminowane dwukrotnie w odstępach 12 godzin.

W naszych wieloletnich pracach nad uzyskiwaniem transgenicznych świń przyjęliśmy następujące postępowanie. Dawczyniami zarodków były loszki rasy Landrace, Duroc, Hampshire lub PBZ 991 w wieku 6-8 miesięcy i wadze od 85 do 120 kg. Przez 5 dni poprzedzających podanie gonadotropiny loszki poddane były obserwacji, której celem było wychowanie sztuk wykazujących ruję. Superowulację wywoływano poprzez domięśniową iniekcję 1500 jm PMSG (Biowet-Drwalew) oraz dożylnie podanie po 72 h 1000 jm HCG (Biomed-Lublin). Po upływie 24 i 36 godzin od podania HCG loszki były kryte lub inseminowane niezależnie od objawów rujowych. U znacznej odsetki superowulowanych loszek, mimo że zewnętrzne objawy rui nie występowały, dochodziło do owulacji i zapłodnienia komórek jajowych. Jest to rezultatem niskiego poziomu estrogenów w pęcherzykach jajnikowych poddanych stymulacji gonadotropinami. Z tego powodu inseminacja superowulowanych loszek jest lepszym rozwiązaniem niż ich krycie. Uzyskiwanie zygot następowało poubojowo. Loszki były ubijane po 48 do 52 godzin od podania HCG. Zygoty wypłukiwano z wyciętych jajowodów przy użyciu płynu PBS uzupełnionego albuminą. Równocześnie rejestrowano liczbę owulacji na jajnikach. Łącznie superowulacji poddano 323 loszki. Średnio liczba owulacji przypadająca na sztukę wynosiła ok. 20, a średnia liczba zygot 15. Oznacza to, że stopień odzysku wynosił ok. 75%. Stwierdzono, że efektywność superowulacji

mierzona liczbą uzyskanych zygot na 1 dawczynię była zależna od wagi ciała loszki. Od loszek, których waga ciała nie przekraczała 100 kg uzyskano średnio 14,0 zygot, od loszek o wadze ciała od 101-110 kg uzyskano średnio 14,8 zygot, a od loszek o ciężarze powyżej 110 kg — 19,6.

Z uzyskanych wyników superowulacji wynika, że korzystniejsze jest użycie jako dawczyń loszek, których waga ciała przekracza 110 kg, a zatem loszek starszych. Użycie do superowulacji takich loszek może być jednak związane z obniżeniem jakości zygot. Znaczny odsetek takich loszek, to te, u których wcześniej występowały ruje. W momencie owulacji posiadały na jajnikach ciała żółte w różnym wieku. Wiadomo, że rozwój zarodków w obecności wysokiego poziomu progesteronu może negatywnie wpływać na ich wartość biologiczną.

Analiza wyników superowulacji pod kątem pory roku, w którym zabieg był wykonywany, nie wykazała różnic między okresem jesienno-zimowym a wiosenno-letnim. Zarówno liczba obserwowanych owulacji jak i średnia liczba uzyskanych zygot była na tym samym poziomie.

2.2. Ocena zygot i mikroiniekcja DNA

Bezpośrednio po wyplukaniu uzyskane zygoty umieszczano w płynie PBS uzupełnionym 20% dodatkiem surowicy płodów cielęcych (FCS) i wstępnie oceniano ich wygląd morfologiczny. Morfologicznie normalne zygoty z jednolicie granulowaną cytoplazmą i 2 ciałkami kierunkowymi lub zarodki 2-komórkowe kwalifikowano do mikroiniekcji. W celu uzyskania wizualizacji przedjądrzy zygoty i 2-komórkowe zarodki wirowano stosując przez 5 minut 15 000 g. Po wirowaniu wyselekcjonowane zygoty lub zarodki umieszczano w komorze mikromanipulacyjnej wypełnionej płynem PBS uzupełnionym 20% FCS. Zabiegi mikroiniekcji przeprowadzano pod mikroskopem odwróconym (Diaphot-Nikon, Japonia) wyposażonym w optykę Nomarskiego przy użyciu pneumatycznych manipulatorów (de Fonbrune-Bediun, Francja). Iniekcji DNA dokonywano do jednego z widocznych przedjądrzy zygoty lub do obydwu jąder 2-komórkowego zarodka. Objętość wprowadzonego do przedjądrzy DNA wynosiła od 2 do 5 pl, przy koncentracji 2, 4 lub 6 ng/ μ l. W przeprowadzonych dotychczas pracach z zakresu transgenezy u świń dokonywaliśmy mikroiniekcji DNA głównie do zygot oraz niewielkiej liczby zarodków 2-komórkowych. W wyniku wirowania i mikroiniekcji DNA ok. 15% zygot uległo zniszczeniu.

2.3. Synchronizacja biorczyń i przenoszenie zygot

Biorczyniami poddanych mikroiniekcji DNA zygot były loszki tych samych ras co dawczynię zarodków w wieku od 6 do 7,5 miesięcy i masie ciała od 80 do 100 kg. Synchronizację cyklu rujowego loszek-biorczyń przeprowadzono podając im domięśniowo 750 jm PMSG, a 72 h później 500 jm HCG. Jednej biorczyni przenoszono od 15 do 42 zygot i zarodków 2-komórkowych. Przenoszenie przeprowadzono metodą chirurgiczną w ciągu od 1 do 2 h po mikroiniekcji DNA.

Łącznie przeprowadziliśmy transplantację ponad 4000 zygot i zarodków 2-komórkowych wykorzystując do tego celu 160 zsynchronizowanych biorczyń. Przyjęta metoda synchronizacji rui biorczyń była bardzo skuteczna i u ponad 95% loszek stwierdzono obecność owulacji. Odsetek prośnych biorczyń wynosił 25-30%, natomiast średnia liczba urodzonych prosiąt w miocie wynosiła 3,9.

Efektywność transplantacji mierzona liczbą urodzonych prosiąt w stosunku do liczby transplantowanych zygot wyniosła ok. 4%. Jest to rezultat niższy od wyników uzyskiwanych przez innych autorów (2,3), którzy osiąkali ok. 10% efektywność. Głównym powodem obniżonych wyników transplantacji zygot świńskich poddanych mikroiniekcji DNA są, jak się wydaje, ich ograniczone możliwości rozwojowe spowodowane mikroiniekcją DNA we wczesnym okresie rozwoju embrionalnego (4). Odsetek zdegenerowanych zarodków na skutek mikroiniekcji może sięgać 60% (1).

Czynnikiem mającym dość istotny wpływ na efekty transplantacji była liczba transplantowanych zygot. Najwyższą efektywność uzyskano w grupie biorczyń, którym transplantowano od 15 do 25 zygot. W grupach biorczyń otrzymujących od 26 do 35 i powyżej 36 zygot obserwowano spadek efektywności transplantacji.

Przeciwnie Lancaster i wsp. (2) najlepsze rezultaty transplantacji poddanych mikroiniekcji DNA zygot świńskich uzyskali transplantując jednej biorczyńi ponad 30 zygot. Jest to liczba znacznie wyższa niż w przypadku transplantacji zarodków nie poddawanych manipulacjom, z uwagi na zamieranie znacznego odsetka poddanych mikroiniekcji zygot.

Poza liczbą transplantowanych zygot znaczny wpływ na efektywność transplantacji miała koncentracja wprowadzonego DNA. Zwiększenie koncentracji DNA z 2 do 4 czy 6 ng/ μ l powodowało znaczny spadek efektywności metody. W przypadku koncentracji DNA wynoszącej 2 ng/ μ l uzyskiwaliśmy średnio ok. 5% prosiąt w stosunku do transplantowanych zygot. Odsetek ten dla koncentracji DNA 4 ng/ μ l wyniósł 2,4 i utrzymywał się na tym samym poziomie w przypadku użycia DNA o koncentracji 6 ng/ μ l, co świadczyłoby, że zwiększenie koncentracji DNA mogło powodować efekt toksyczny u większego odsetka zygot niż to ma miejsce w przypadku koncentracji 2 ng/ μ l, tj. standardowej. Podwyższenie koncentracji wprowadzonego DNA było uzasadnione możliwością (jak w przypadku zygot króliczych i bydłęcych (5)), uzyskania zwiększonego odsetka transgenicznych zwierząt.

Pora roku, która ma pewien wpływ na wyniki rozrodu świń, w naszym przypadku, jak się okazało, była również istotnym czynnikiem. Odsetek prośnych biorczyń w okresie jesienno-zimowym wynosił 21, a w okresie wiosenno-letnim 28%. Jeszcze bardziej różniła się efektywność transplantacji mierzona stosunkiem uzyskanych prosiąt do transplantowanych zygot. W okresie jesienno-zimowym efektywność ta wynosiła 3,2, a w okresie wiosenno-letnim 6,1%.

Liczba prosiąt martwo urodzonych w miotach pochodzących od loszek-biorczyń zarodków poddanych mikroiniekcji była porównywalna z występującą na tej fermie w miotach loszek lub loch krytych albo inseminowanych. Można zatem zakładać, że mikroiniekcja DNA do zygot poza redukcją ich

żywności w początkowym okresie rozwoju nie wywołuje negatywnych skutków w odniesieniu do rozwijających się płodów.

Stopień integracji wprowadzonego do zygot świń egzogenne DNA mierzony odsetkiem transgenicznych zwierząt w stosunku do urodzonego (potencjalnie) transgenicznego potomstwa wynosi od 1 do 4% (6). Chociaż może być w niektórych przypadkach wyższy. W naszych badaniach odsetek ten wynosił ok. 2%.

Nie wszystkie zwierzęta oceniane jako transgeniczne wykazują ekspresję transgenu. Odsetek świń, u których stwierdzono obecność egzogenne DNA, lecz nie stwierdzono jego ekspresji może wynosić nawet ok. 40%. Istotnym dla oceny wartości technologii transgenicznej jest dziedziczenie cech zwierząt transgenicznych. Stwierdzono, że podobnie jak u innych zwierząt również u świń nie odbywa się ono według zasad mendlowskich. Około 20% transgenicznych świń w ogóle nie przekazuje transgenu (7). Odsetek transgenicznego potomstwa, jaki można uzyskać w wyniku krzyżowania transgenicznej świni ze swinią nietransgeniczną, waha się od 0 do 50%. W naszych badaniach obserwowaliśmy, że potomstwo transgenicznych knurów oraz nietransgenicznych loszek tylko w 20 do 30% jest transgeniczne.

3. Kierunki transgenicznych modyfikacji świń

Zainteresowanie transgenicznymi modyfikacjami u świń dotyczy zarówno aspektów hodowlanych, jak i pozahodowlanych głównie o charakterze biomedycznym. Obecne trendy rozwojowe transgenezy u świń świadczą, że ten drugi aspekt będzie odgrywać w przyszłości dominującą rolę.

W przypadku hodowli celem technologii transgenicznej jest poprawa lub uzyskanie nowych cech produkcyjnych, ważnych z ekonomicznego punktu widzenia. Cechy te są na ogół uwarunkowane różnymi genami, z których do tej pory zaledwie kilka zostało zidentyfikowanych. Fakt ten jest jednym z głównych czynników ograniczających modyfikacje transgeniczne świń dla potrzeb produkcji hodowlanej.

Dotychczas na swiniach przetestowano kilkadziesiąt konstruktów genowych (3). Większość doświadczeń dotyczących genetycznych manipulacji na genomie świni przeprowadzona była w celu otrzymania zwierząt z podwyższonym poziomem hormonu wzrostu dla uzyskania większych przyrostów masy ciała, lepszego wykorzystania paszy czy redukcji tłuszczu (6,8-12). W tym celu użyto zrekombinowany DNA, zawierający różne promotory połączone z genem hormonu wzrostu. Uzyskiwane transgeniczne świnię, posiadające zintegrowane ze swymi genomami wprowadzone konstrukty genowe tylko w nielicznych przypadkach wykazywały ekspresję transgenu (6,9,10,12-14). Uzyskane efekty w bardzo wielu przypadkach nie były jednoznacznie pozytywne z produkcyjnego punktu widzenia. Powodem był niekorzystny wpływ ekspresji na zdrowie zwierząt. Objawiało się to utratą apetytu, wadami kończyn czy zaburzeniami procesów rozrodczych. W przeprowadzonych przez nas obserwacjach na pierwszym pokoleniu transgenicznych świń posiadają-

cych zintegrowany gen hormonu wzrostu Mt-bGH lub MT-bGH-G119R (11) nie wykazaliśmy istotnych zmian dotyczących przyrostów, czy umięśnienia badanych zwierząt. Jednocześnie transgeniczne świnie pokolenia F2 różniły się między sobą mięsnością tusz (15). Najbardziej, jak się wydaje, pozytywnym przykładem modyfikacji transgenicznej świń z użyciem genu hormonu wzrostu są wyniki prac Solomona i wsp. (14). Autorzy ci badali zawartość tłuszczu, kwasów tłuszczowych i cholesterolu w tuszkach 26 transgenicznych świń z wbudowanym genem bGH i porównywali je z tuszkami świń nietransgenicznych. Świnie były ubijane po osiągnięciu 5 różnych wag: 14, 28, 48, 68 i 92 kg. We wszystkich przypadkach stwierdzono bardzo wyraźny, bo wynoszący od ok. 40 do ok. 90% redukcji tłuszczu oraz nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych. Jednocześnie nie stwierdzono różnicy w zawartości cholesterolu w mięsie transgenicznych i nietransgenicznych zwierząt. Wyniki tych prac są więc bardzo obiecujące, gdyż redukcja zawartości tłuszczu oraz większa zawartość mięsa w tuszkach świń są podstawowym celem prac nad doskonaleniem genetycznym świń.

Inną próbą uzyskania większego umięśnienia u świń było wykorzystanie genu, który w założeniu miał stymulować rozwój mięśniowy (MSV-CSKJ) (6). Transgeniczne świnie wykazywały hipertrofię mięśniową ok. 3 miesiąca życia oraz wydłużoną szynkę, ale u wielu zwierząt obserwowano niekorzystne efekty uboczne w postaci atonii mięśniowej oraz słabych kończyn.

Spore zainteresowanie budzi kierunek modyfikacji transgenicznej świń, którego celem jest uzyskanie zwierząt odpornych na choroby (3). Testowano 7 różnych transgenów. Żadne z tych badań nie zakończyło się jednak otrzymaniem zwierząt wykazujących korzystne działanie transgenu.

Wspomniano, że świnia jest zwierzęciem wykorzystywanym często dla realizacji transgenicznych projektów biomedycznych. Kształtują się 4 kierunki tych badań, których celem jest:

1. Produkcja ważnych z punktu widzenia leczniczego białek (3,16-22).
2. Uzyskiwanie zmodyfikowanej genetycznie hemoglobiny jako substytutu krwi (3,21,23,24).
3. Uzyskiwanie transgenicznych świń-dawców narządów do ksenotransplantacji (2,3,23,24).
4. Produkcja świń-modeli badawczych genetycznych chorób człowieka (3).

Świnia, mimo że nie jest utożsamiana ze zwierzęciem produkującym mleko, jak się okazało, jest bardzo przydatna do uzyskiwania zmodyfikowanych genetycznie białek z mleka. Shamay i wsp. (16) jako pierwsi wykazali możliwość produkcji obcego białka w mleku transgenicznych świń. Problematyka wykorzystania transgenezy do modyfikacji mleka ssaków jest przedstawiona w tym numerze „Biotechnologii” przez Zwierzchowskiego.

Realna staje się produkcja ludzkiej hemoglobiny w świńskich erytrocytach. Jest to bardzo istotne w związku ze zmniejszającą się w skali światowej liczbą dawców krwi, a także z problemem przenoszenia infekcji wirusowych. Ważne jest również to, że możliwość przekazywania patogenów między człowiekiem i świnia jest niewielka (21). Mimo istniejących problemów związanych z uzyskiwaniem pełnego podobieństwa hemoglobiny świńskiej do hemoglobiny lu-

dzkiej, wyprodukowanej za pomocą technologii transgenicznej, jak również pewnych problemów z jej oczyszczeniem, prace nad wykorzystaniem świńskiej hemoglobiny jako substytutu krwi ludzkiej są już na etapie prób klinicznych.

Z dużym zainteresowaniem w ostatnich latach spotyka się wykorzystanie transgenicznych świń jako dawców organów do ksenotransplantacji. Jest to bardzo ważny społecznie problem w sytuacji dużego niedoboru organów do przeszczepów. Obecna strategia zakłada wykorzystanie organów świni do transplantacji przejściowych, zanim odpowiedni organ ludzki będzie dostępny (3). Celem głównym tych badań jest oczywiście stworzenie warunków do wykorzystania takich organów jako ostatecznych. Obiecujący jest kierunek badań zmierzających do wykorzystania świń jako modelu chorób genetycznych (cyt. za 3). Do tej pory używano do tego celu głównie myszy. Jednak najlepiej spełnia te warunki świnia. Autorzy tego artykułu uczestniczą w realizacji projektu, którego celem jest uzyskanie transgenicznych świń z ekspresją genu G_{α} odpowiedzialnym za regulację krążenia. Badania te prowadzimy we współpracy z Allegheny University of the Health Sciences w Pittsburgu oraz z Edison Biotechnology Institute Athens, Ohio. Obecnie transgeniczne świny poddawane są skomplikowanej metodzie oceny ekspresji.

Przedstawione przez nas w dużym skrócie możliwości wykorzystania technologii transgenicznej u świń, jak również osiągnięte już w tym zakresie wyniki świadczą, że technologia ta w najbliższych latach może być zastosowana dla osiągnięcia ważnych, a dotychczas niemożliwych do uzyskania celów praktycznych, zarówno hodowlanych jak i biomedycznych. Pewną barierą dla szerszego wykorzystania transgenezy u świń będzie zarówno jej ograniczona dostępność, jak i wciąż niska wydajność, a co się z tym łączy, znaczne jej koszty. Dlatego też w podejmowanych badaniach należy dalej koncentrować się na poprawie efektywności poszczególnych ogniw metody.

Literatura

1. Williams B. L., Skarks A. E. T., Canseco R. S., Knight J. W., Johnson J. L., Velander W. H., Page R. L., Drohan W. N., Kornegay E. T., Pearson R. E., Wilkins T. D., Gwazdanskas F. C., (1992), *Theriogenology*, 38, 501-511.
2. Lancaster R. T., Elsome K. T., Yannoutsos N., Langford G. A., Richards A., Cozzi E., Tolan H., Wallwork J., White D. J. G., (1996), *Proc. of the 13th Int. Cong. Anim. Reprod.*, (June 30-July 4), 3, P26-3.
3. Walt R. J., (1996), *Theriogenology*, 45, 57-68.
4. Koo D. B., Lim J. G., Lee S. M., Chung K. S., (1996), *Proc. of the 13th Int. Cong. Anim. Reprod.*, (June 30-July 4), 3, P26-4.
5. Jura J., Smorag Z., Skrzyszowska M., Kątska L., Gajda B., (1996), *Journal of Physiology and Pharmacology*, 47, 2, suppl 1, 156.
6. Pursel V. G., Rexroad C. E., (1993), *Mol. Reprod. Dev.*, 36, 251-254.
7. Nottle M. B., Nagashima H., Verma P. J., Ashman R. J., Du Z., Grupen C. G., Mc Ilfetrick S. M., Herding M. P., Cheah C., Harricon D. T., Luxford B. G., Campdell R. G., Crawford R. J., Robins A. J., (1996), *Proc. of the 13th Int. Cong. Anim. Reprod.*, (June 30-July 4), 3, P-26-2.
8. Brem G., (1993), *Molecular Reproduction and Development*, 36, 242-244.
9. Brening B., Brem G., (1991), *Reprod. Dom. Anim.*, 26, 14-21.

10. Hammer R. E., Pursel V. G., Rexroad C. E. Jr, Walt R. J., Bolt D. J., Ebert K. M., Palmiter R. D., Brinster R. L., (1985), *Nature*, 315, 680-683.
11. Smoraǵ Z., Jura J., Skrzyszowska M., Gajda B., Kophick J. J., Chen W. Y., Różycki M., Mroczko L., Pasięka J., (w przygotowaniu do druku).
12. Wall R. J., Pursel V. G., Hammer R. E., Brinster R. L., (1985), *Biology of Reproduction*, 32, 645-651.
13. Holtz W., Schlieper B., (1991), *Theriogenology*, 35(6), 1237-1249.
14. Solomon M. B., Pursel V. G., Paroczay E. W., Bolt D. J., (1994), *J. Anim. Sci.*, 72, 1242-1246.
15. Różycki M., Smoraǵ Z., Pasięka J., Jura J., (w przygotowaniu do druku).
16. Shamay A., Pursel V. G., Wilkinson E., Wall R., Hennighausen L., (1992), *Transgenic Research*, 1, 124-132.
17. Luboń H., Paleyanda R. K., (1997), *Thromb Hemost.*, 78(1), 532-536.
18. Medvet L. V., Orthner C. L., Luboń H., Lee T. K., Drohan W. N., Ingham K. C., (1995), *J. Biol. Chem.*, 270, 1,23, 13652-13659.
19. Le T. K., Drohan W. N., Luboń H., (1995), *J. Biochem.*, 118, 81-87.
20. Paleyanda R. K., Velander W. H., Lee T. K., Scandelle D. H., Gwazdanskas F. G., Knight J. W., Hoyer L. W., Drohan W. D., Luboń H., (1997), *Nature Biotechnology*, (in press).
21. van Cott K. E., Luboń H., Russel Ch. G., Butler S. P., Gwazdanskas F. C., Knight J., Drohan W. N., Velander W. H., (1997), *Transgenic Research*, 6, 203-212.
22. Kashiwezaki N., Hirabayasaki M., Kodaire K., Takahashi R., Suzuki T., Ueda M., (1996), *Proc. of the 13th Int. Cong. Anim. Reprod.*, (June 30-July 4), 3, P-26-1.
23. Fodor W. L., Williams B. L., Matis L. A., Madri J. A., Rollins S. A., Knight J. W., Velander W., Squinto S. P., (1994), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, F91, 11153-11157.
24. Rosengard A. M., Cary N. R. B., Langford G. A., Tucker A. W., Wallwork J., White D. J. G., (1995), *Transplantation*, 59, 1325-1333.

Transgenic pigs: production and genetic modification

Summary

This paper presents the methods of transgenic pigs production and the results based on the long experience of the authors in this area. Moreover, the trends and current issues of transgenic modification in pigs are discussed.

Key words:

pig, superovulation, zygotes, DNA microinjection, transgenic modification.

Adres do korespondencji:

Zdzisław Smoraǵ, Instytut Zootechniki, Zakład Fizjologii Rozrodu,
32-083 Balice k. Krakowa; e-mail: zsmoraǵ@izoo.krakow.pl