

## 해양동물의 세포유전과 분화연구

손진기

강릉대학교 생명과학대학 해양생명공학부

### A Study on the Cytogenetics and Differentiation of Marine Animals

Jin-Ki Son

College of Life Science, Faculty of Marine Bioscience & Technology,  
Gangnung National University, Gangwon-do 210-702, Korea

**ABSTRACT** : Present study was aimed to summary the recent reports of chromosomal technology such like a polyploidy, sex differentiation, gynogenesis, transgenic fish and gene manipulation. Triploid cells for rainbow trout and channel catfish were induced through thermal shocks of varying temperature levels and produced as a industrial use.

A monosex fish with homogametic females of 15 species of high valued fish were produced by exposing to irradiation. It seemed that different irradiation was suitable to inactivate the sperm and block the formation in producing the gynogenetic diploids. Since 1985, transgenic fish have been successfully produced by microinjecting or electroporating desired foreign DNA into unfertilized or newly fertilized eggs using about 40 fish species. More recently, transgenic fish have also been produced by infecting newly fertilized eggs with pantropic, defective retroviral vectors carrying desired foreign DNA. These transgenic fish can serve as excellent experimental models for basic scientific investigations as well as in marine biotechnological applications.

**Key words** : Chromosomal technology, Triploidy, Gynogenesis, Transgenic fish, Gene manipulation.

**요약** : 최첨단 연구로 성장하고 있는 해양생물공학 연구 중 염색체공학 연구의 배수체 조작, 성분화, 자성 발생, 형질전환 어류와 유전자 조작에 관한 최근의 연구 동향을 분석하고 향후 발전 방향에 관하여 살펴보았다. 배수체 연구 중 3배체 어류 생산 연구는 20여종의 어류들 중 무지개 송어와 메기가 물리적 충격을 이용한 실험법으로 산업적으로 이용 가능한 수준에 있다. 성분화를 포함한 약 15종의 고급 어종이 방사선 투사법에 의해 자성 발생 2배체를 생산 유도하였다. 형질전환 어류는 1985년 이래 약 40여종의 어류가 외래 유전자를 미세 조작이나 전기충격법에 의해 형질전환되고 있다. 최근에 역바이러스성 벡터들에 의한 외래 유전자를 이용한 형질전환 어류가 생산되었으며 이러한 형질전환 어류는 기초과학 육성은 물론 해양생물공학 연구의 발전이 기대되고 있다.

## 서론

식량 수급이라는 절대적인 수요에 대비한 해양생물공학 연구는 동물성 단백질의 확보면에서 초미의 관심사인 최첨단 연구로 성장하고 있으며, 동물성 단백질 공급량의 약 60%를 해양생물자원에 의존하고 있는 우리나라는 국민소득의 향상과 더불어 식품구조가 점차 고급화, 다양화 되어감에 따라 고급 어종의 수요가 공급량을 초과할 것으로 예상된다. 그러나 연안어장의 생산력 감퇴, 원양어업의 각종 제약과 환경 오염에 의한 생산성 감소 등으로 인하여 국내·외적으로 점차 어업여건이 변화되고 있다.

우리나라의 수산물은 매년 생산량이 저하되고 있는 반면 수요량은 폭발적으로 증가하여 향후 국민소득 향상과 식품구조가 다양화 되어감에 따라 현재보다 더 심한 수요와 공급의 불균형이 지속될 것이며, 생산능력 향상과 육종의 과학화를 위한 첨단 공학적 연구는 부존 자원이 부족한 우리나라로서는 고도의 지식 집약적 기술인 생물공학 기술을 개발하여 단백질 생산을 목적으로 하는 해양동물의 고부가가치 창출은 물론 국제 경쟁력과 생물자원의 생산성 향상을 확보하는 것이 우선 추진되어야 한다. 따라서 본 연구는 첨단기술의 산업적 응용을 목표로 신기술 개발에 박차를 가하고 있는 최근의 연구동향을 분석하고 향후 발전 방향에 대하여 살펴보고자 한다.

## 연구동향

### 1. 염색체공학

<sup>†</sup> 교신저자: 강원도 강릉시 지변동 123, 강릉대학교 생명과학대학 해양생명공학부. (우) 210-702, (전) 033-640-2411, (팩) 033-648-6560, E-mail: sonjk@kangnung.ac.kr

염색체공학은 염색체에 인위적으로 특수 처리하는 기술로써 난자나 정자단계의 초기 유생들을 조작함으로써 정상인 어류(대부분 2배체, diploid)로 성장을 축진을 유도하고 있는데 난자가 수정 후 시간이 경과되면 제2 성숙분열이 증기에서 후기로 진행하려는 단계에 있고, 이러한 시간에 따라 수온을 이용한 충격을 받아 밖으로 나오려는 극체가 다시 난자속으로 들어가 2개의 염색체끼리 융합해 그대로 난자핵이 형성되고 동시에 수정된 정자핵과 합치는 발생학적 기작을 이용하는 산업기술이다.

### 1) 배수체 조작

염색체 공학 기법을 통한 배수체의 생산은 어류의 유전 육종시 매우 효과적인 방법의 하나로서 이제까지 약 20여종의 어류들에 대하여 3배체가 유도된 바 있고, 이중 무지개송어 3배체의 경우 영국에서는 Super trout라는 상품명으로 세계 각국에 판매되고 있으며, channel catfish의 3배체는 미국에서 산업적으로 생산되고 있다. 프랑스에서는 최근 무지개송어 4배체가 생산되어 이 4배체와 2배체의 교배에 의한 3배체 무지개 송어가 보고된 바도 있다. 중간 교잡에 의한 잡종 개체의 생산은 잡종 강세를 양식에 이용함으로써 생산성을 높이기 위한 방편으로 시도되고 있다. 그러나, 중간 잡종에 의한 개체의 기초 생산율이 낮고 획득 가능한 잡종 강세의 한계성으로 인해 잡종화뿐만 아니라 염색체 공학 기법을 도입하여 잡종 3배체(allotriploid) 및 잡종 4배체(allotetraploid) 등의 신품종 어류 개발이 시급히 요구되고 있다.

### 2) 성분화 연구

집단의 성비를 조절하여 양식에 응용하고자 하는 연구는 매우 활발하여 현재까지 약 15종의 어류에 대한 생리학적 성전환이 가능했던 보고가 있다. 최근에는 무지개송어 및 틸라피아에 대한 유전학적 성전환이 시도되고 있으며 이 분야는 성분화 기작에 대한 기본적인 연구 자료로서도 중요한 세포조작으로 대두하고 있다.

유전적 성결정 기구가 이형접합자(XX)형의 어류에서 자성 또는 응성 발생에 이은 배수화와 성호르몬의 병용 처리 등에 의해, 정상의 유전적 성과 다른 초웅(YY)개체 및 기능적 성을 가진 개체를 유도하여 전 암컷 또는 전 수컷 집단을 생산하는 것이 연어·송어과 어류에서 가능하게 되었다.

### 3) 자성 발생어류 생산

어(패)류에서는 종이나 용도에 따라 암컷과 수컷의 가치가 현저하게 다른 경우도 있다. 이러한 이유 때문에 가치가 높

은 성(性)만을 생산하는 효율적인 방법이 요구되는 것이다. 가장 실용적인 성별분리 방법은 성을 결정하는 정자를 처음부터 분리해 두는 것이다. 정자는 동결 보존하여 운반이 가능하기 때문에, 언제 어디서라도 인공수정 방법으로 단성종묘를 얻을 수 있는 방법과 암컷의 유전자를 복사할 수 있는 자성 발생 연구기법이며 유전적 개체 차이를 제거하여 순계 생산을 목적으로 하여 단시간 내 후대의 양호한 품종을 생산하고 있다. 자성 발생 배(胚)는 반수성으로 부화시에 현저한 기형을 나타내지만, 배수화의 방법에 의해 정상적인 외형을 가진 자성 발생 2배체를 만드는 것이 가능하다. 이 경우, 부계의 게놈 세트의 결여에 의해, 근교 현상이 나타난다. 동물에 있어서 게놈의 배수화는 제1, 2 감수분열시 극체 방출 저지 및 제1 난할 억제에 세 가지 경우에 가능하지만, 근교의 정도는 배수화의 방법에 따라 다르다. 제1 난할 억제에 의한 경우, 가장 높은 근교도가 기대되기 때문에 열성, 유해 유전자의 검출 및 제거 또는 근교계 설정, 순계 설정, 품종 개량의 촉진 등 유용한 유전육종 기술로 이용될 수 있다.

어류에 있어서 인위적 단성발생 특히 자성 발생 유도 시도는 잉어, 미꾸라지, 철갑상어 등을 이용한 실험이 보고되었으며, 정자의 불활성화에는 처음에는  $\gamma$  선을 이용하였으나, 그 후 X선 또는 자외선에 의해서도 동일한 효과가 나타나는 것

Table 1. The study of gynogenesis

Shellfish	Treatment method	Induction rate
Loach, man churian-sturgeon, carp	$\gamma$ -ray irradiation	70%
Carp	$\gamma$ -ray irradiation	80%
Carp	$\gamma$ -ray irradiation	70%
Trout	$\gamma$ -ray irradiation	80%
Flounde	sperm	
Carp	X-ray irradiation	90%
Flounder	sperm	
Carp, grass carp	UV-ray irradiation	30%
Carp	X-ray irradiation	80%
Carp	$\gamma$ -ray irradiation	-
Trout	$\gamma$ -ray irradiation	-
Rainbow trout	$\gamma$ -ray irradiation	-
Flounder	$\gamma$ -ray irradiation	-
Zebra fish	UV-ray irradiation	30%
Silver big head	$\gamma$ -ray irradiation	-
Rainbow trout, trou	UV-ray irradiation	80%
Loach	UV-ray irradiation	70%
Sweet fish	UV-ray irradiation	60%
Flounder	UV-ray irradiation	60%
Gold fish	UV-ray irradiation	60%
Abalone	UV-ray irradiation	70%

**Table 2. The irradiation of sperm for the gynogenesis**

Species	Irradiation concentration
<i>Fundulus heteroclitus</i>	10 <sup>5</sup> rad <sup>*1</sup> , <sup>137</sup> Cs by sperm
<i>Salmo trutta</i>	10 <sup>4</sup> ~10 <sup>6</sup> rad, <sup>60</sup> Co by sperm or egg
<i>Pleuronectes platessa</i>	10 <sup>4</sup> ~10 <sup>6</sup> rad, <sup>60</sup> Co by sperm or egg
<i>Platichys flesus</i>	10 <sup>4</sup> ~10 <sup>6</sup> rad, <sup>60</sup> Co by sperm or egg
<i>Cyprinus carpio</i>	10 <sup>5</sup> R <sup>2</sup> , X-ray by sperm
<i>Brachydanio rerio</i>	10 <sup>3</sup> erg/mm <sup>2</sup> , UV by sperm

\*1 1 rad=100erg/g, \*2 렌트겐.

이 발견되었으며, 또 다른 어종의 정자에 의해서도 자성 발생 유발이 가능하다는 것이 밝혀져, 1970년대 이후, 연구는 급속한 발전을 하였다(Table 1).

한편, 앞에서 기술한 것과는 반대로, 사전 처리한 난자를 이용하여 정상적인 정자와 수정시킴으로써 응성 발생 유도에 성공한 예는 극히 드물다. Table 2는 많은 어종에 있어서 자성 또는 응성 발생을 위한 정자 또는 난자의 조사 조건의 예를 나타내고 있다.

극체로써 방출되는 계놈을 억제함으로써 배수화가 가능하다. 경골어류 난자는 정상 상태에서 제2 감수분열 중기의 상태에서 배란되어, 수정 후 즉시 자성 계놈 2조 중 1조를 제2 극체로써 방출한다고 보고된 후, 고 수온, 고 수압 등 물리적 자극 또는 cytochalasin B 용액 침적 등의 화학적 자극에 의해서도 극체 방출이 저지되고, 계놈 수 증가가 가능하다는 것이 많은 어종에서 보고되고 있다.

또 몇 종의 무척추동물에 있어서는 제1 감수분열 중기 상태에 배란이 일어나 수정 가능한 것이 밝혀져, 이와 같은 경우에는 조작 가능한 시기가 제1 감수분열과 제2 감수분열기에 걸쳐 두 번 있고, 따라서 서로 간의 유전적 조성, 특히 근교도가 다른 배수화 형제군의 생산이 가능하다. 이와 같은 방법에 의한 어패류의 3배체 생산이 Table 3과 같이 보고되고 있다.

유전적으로 불활성된 정자 또는 정상 정자를 이용한 수정에 의해 얻어진 접합자의 제1 난할을 물리·화학적 자극으로 억제하여, 계놈을 배가시켜 각각 자성 발생 2배체 또는 4배체를 유도하는 시도가 보고되고 있다(Table 4). 이 방법에 의해 생산된 자성 발생 2배체는 극체 방출저지법에 의한 것에 비교하여 높은 동형접합화가 기대되어, 개체 수준에서는 그것이 완전하게 달성된다.

또, 난할 억제에 의해 생산된 4배체는 암수 양성 모두가 임성(妊性) 유지가 예상되기 때문에, 정상 2배체와의 교잡을 통한 3배체의 효율적 생산에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

**Table 3. The study of manipulation of triploid**

Species	Treatment method	Induction rate
Trout	Low temperature	100%
Stickleback	Low temperature	100%
Man churian-sturgeon	High temperature	70%
Flounder	Low temperature	100%
Trout	Cytochalasin B	-
Carp	Low temperature	100%
Trout	High temperature	70%
Carp	Low temperature	100%
Channel catfish	Low temperature	100%
Trout	High temperature	80%
Trout	High water pressure	25%
Salmon	High temperature	80%
Loach	Low temperature	100%
Sweet fish	Low temperature	100%
Salmon	High temperature	70%
Tilapia	High temperature	70%
Channel catfish	Low temperature	100%
Gold fish	Low temperature	100%
Rainbow trout	High pH · high Ca	-
America oyster	Cytochalasin B	-
Atlantic scallop	Cytochalasin B	-
Abalone	Low temperature	100%
Oyster	Cytochalasin B	-

**Table 4. The study of diploid by the first inhibition\***

Fish species	Treatment, method	Induction rate
Man churian-sturgeon	Low temperature	100%
Trout	Low temperature	100%
Flounder	Low temperature	100%
Carp	Low temperature	100%
Trout	High temperature	70%
Trout	High temperature	70%
Zebra fish	High water pressure	30%
Snapper	Low temperature	100%
Sweet fish	High water pressure	40%
Gold fish	Low temperature	100%
Tilapia	High temperature	70%
Tilapia	High temperature	80%
Carp	Low temperature	100%
Flounder	High water pressure	40%

**2. 형질전환 어류**

Table 5에 나타난 바와 같이, 해양동물의 유전자 도입은 '80년대 후반부터 어류에서 연구되기 시작하였고, 육종을 위한 새로운 방법으로서 관심의 대상으로 부각되기 시작하였다.

**Table 5. The gene and sequence type for the cell manipulation**

Gene	Sequence type	Species	Reference
Growth hormone	cDNA	<i>Cyprinus carpio</i>	Agellon et al. (1986)
	cDNA	<i>Cyprinus carpio</i>	Dunham et al. (1987)
	gen	<i>Cyprinus carpio</i>	Cheng et al. (1995)
	cDNA	<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>	Chen et al. (1994)
	cDNA	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Chen et al. (1988)
	cDNA	<i>Ctenopharyngodon idella</i>	Schulte et al. (1989)
Prolactin	cDNA	<i>Cyprinus carpio</i>	Paynter & Chen (1991)
	gen	<i>Cyprinus carpio</i>	Leaver et al. (1994)
$\beta$ -Actin	gen	<i>Ctenopharyngodon idella</i>	Ozato et al. (1986)
Gonadotropin	cDNA( $\alpha$ )	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Strom et al. (1992)
Insulin	cDNA	<i>Cyprinus carpio</i>	Power et al. (1992)

cDNA=complementary DNA reverse transcribed from mRNA; gen=genomic gene;  $\alpha$ = $\alpha$ -subunit,  $\beta$ = $\beta$ -subunit.

(Gannon et al., 1990; Wall et al., 1990; Ebert & Schindler, 1993). 어류를 이용한 재조합 DNA의 유전자 형질전환은 Zhu 등(1985)에 의해 발표 이후 척추동물의 수정란의 미세 주입이 이루어졌고(Gordon et al., 1980), 새로운 방법인 정자 전기충격방법(Müller et al., 1992; Sin et al., 1993)과 수정란의 전기충격방법(Inoue et al., 1990; Buono & Linser, 1991; Power et al., 1992; Müller et al., 1993) 등이 소개되었다. 재조합 플라스미드는 일반적으로 벡터로써 사용되고 있지만, lambda phage(Glazer et al., 1986; Chong & Vielkind, 1989)나 인공적으로 제조된 이스트 염색체(Schedl et al., 1992) 등도 가능할 것으로 사료된다.

해양동물의 형질전환 연구가 불리한 이유 중 하나는 어류 배 발생이 비교적 빠르게 진행되기 때문에 통합율(integration rate)이 실험동물인 쥐의 10~25%보다 적은 1~5%로 나타나고 있다(Fletcher & Davies, 1991).

실험어류는 세대간격이 짧고 강한 유전력과 번식력이 있

는 제브라 피쉬(Zebrafish, Westerfield, 1993)나 메다카(Ozato, 1993)가 사용되고 있고 응용연구에서는 주로 연어, 태래어, 메기, 잉어 등이 사용되고 있으며, 이와 같은 어종은 형질전환이 실제 상업적 사용이 가능한 목적을 위해 실험되고 있으며, 증체율, 사료효율 등에 관한 성장호르몬 유전자(Table 6)를 이용하여 이루어지고 있다.

특히 연어 연구는 뇌하수체 추출물이나 성장호르몬 주입으로 증체량 연구(Adelman, 1977, 1982)가 진행되고 있으나 어체의 스트레스에 의한 어려움이 있다(Guise, 1988). 최근 Rous Sarcoma Virus promoter/rainbow trout GH cDNA(pRSV rtGH cDNA)와 Rous Sarcoma Virus promoter/coho salmon GH cDNA(pRSV csGH cDNA)을 이용하여 1,700마리의 잉어에 주입하여 좋은 결과가 있었다(Zhang et al., 2000).

생합성 성장호르몬(biosynthetic GH)이 어류의 성장에 도움이 되고 있으나, 1) 정제된 생합성 성장호르몬 제조가 고가이고, 2) 실험동물에 국한되어 이루어지고 있거나, 3) 각 실험어

**Table 6. The promoter and gene for the cell transfer**

Species	Promoter	Gene	IG	Referenses
<i>Carassius auratus</i>	mMT	hGH	+	Zhu et al. (1985)
<i>Labeo rohita</i> and <i>Chirrhinus mrigala</i>	mMT	hGH	N/A	Lu et al. (1992)
<i>Carassius auratus</i>	RSV	neo	N/A	Zhang et al. (1990)
<i>Carassius auratus</i>	RSV	CAT	N/A	Moav et al. (1992)
<i>Carassius auratus</i>	$\beta$ -act	CAT	N/A	Liu et al. (1990)
<i>Cyprinus carpio</i>	RSV	rtGH	+	
	RSV	csGH	+	Zhang et al. (1990)
<i>Cyprinus carpio</i>	mMT	hGH	+	Zhu (1992)
<i>Cyprinus carpio</i>	RSV	rtGH	N/A	Powers et al. (1992)

IG=increased growth; mMT=mouse metallothionein; h=human; GH=growth hormone; RSV=Rous sarcoma virus long terminal repeat; neo=neomycin resistance; CAT=chloramphenicol acetyltransferase;  $\beta$ -act; rt=rainbow trout; c=coho salmon; N/A=not answerable.

류마다 최적 호르몬 투여량의 조절이 힘들고, 4) 성장호르몬 정착의 비효율 등의 문제점들이 대두하고 있다. 그 외에 사육되고 있는 유전자로는 항동결 유전자와 연어 성장호르몬 유전자(op AFPGHc와 op AFPGHf), 닭의  $\delta$ -크리스탈린(crystallin)유전자, 반딧불 루시페라제(luciferase)유전자, 대장균의  $\beta$ -갈락토시드 가수분해효소(galactosidase) 유전자, 클로람페니콜 아세틸기 전달효소(chloramphenicol acetyltransferase) 유전자, 네오마이신(neomycin) 내성 유전자. 하이크로마이신(hygromycin) 내성 유전자, 잉어의  $\alpha$ -글로빈(globin) 유전자 등이 도입되고 있다. 외래 유전자 DNA의 미세주입은 미세조작기와 전기충격기에 의한 방법이 있다. 연어, 잉어, 매키, 금붕어, 미꾸라지, 메다카, 송어, 틸라피아와 제브라피시(Chen & Power, 1990; Fletcher et al., 1992) 등이 미세 조작기로 연구를 진행하고 있으며, 난자는 수정 후 1~2시간 후, 난자만(cytoplasm)에 약 20nl의 형질전환 유전자를 주입하여 부화 때까지 정상 수온에서 배양하고 있으며 35%에서 80%의 생존율을 보이고 있다. 박테리아, 이스트, 식물과 동물세포에 의해 외래 유전자 DNA를 주입하는데는 전기충격기 방법이 많이 사용되는데 DNA 발현율은 20% 정도이다. 조작이 간편하고 많은 양의 수정란을 동시에 처리할 수 있는 장점이 있다.

이중 DNA는 운반체 분자의 재조합이므로 본질적으로 잡종형질이며, 최근 수년사이에 해양동물의 내분비계 유전자와 연체동물의 신경분비계 유전자의 동정에 현저한 진전이 이루어졌다. 이들 연구성과는 어류 내분비학의 해명에 중요한 정보를 계속 제공해 주고 있다.

특히 성장호르몬 유전자는 어류 종의 증식과 양식으로의 응용이 기대되며, 연어 이외에 뱀장어, 참치, 방어, 넙치, 도미 등 다수의 유용 어류의 성장호르몬 유전자의 클로닝과 대장균에서의 발현이 연구 중에 있다.

## 향후 전망

세포유전과 분화 연구는 그 응용 범위가 하등동물에서부터 고등동물에 이르기까지 다양한데 그 중에서도 식량문제를 위한 연구는 세계 각국의 대학연구소 기업들이 활발한 연구를 진행중이어서 상당히 빠른 발전을 보이고 있다. 그 중 해양동물의 경제적 가치는 연평균 약 26조 달러이고 이 수치는 연간 전 세계 해양생물 총 생산액의 두 배이고, 첨단 기술을 이용하면 향후 발전 잠재력이 매우 높은 연구분야로써 재창조와 혁신적인 연구 풍토를 개선해야 할 중대한 시점에 와 있다. 또한 육종기술 개발과 종묘생산 기술의 안정화

에 유력한 실험재료로 대두되고 있는 해양생물공학 중 염색체 조작 연구 역시 성숙 기작이나 성별 결정기구를 기본적으로 해명하지 못한 문제점들의 규명에도 중요한 연구 대상이 되고 있다.

## 인용문헌

- Agellon LB, Ghen GT (1986) Rainbow trout growth hormone : molecular cloning of cDNA and expression in *Escherichia coli*. DNA 5:463-471.
- Buono RJ, Linser PJ (1991) Transgenic zebrafish by electroporation. BioRad US/Eg Bull 1354:1-3.
- Chen TT, Powers DD (1990) Transgenic fish. Trends Biotech 8:209-215.
- Chen TT, Marsh A, Shambloot MJ, Chan KM, Tang YL, Cheng CM, Yang BY (1994) Structure and evolution of fish growth hormones and insulin-like growth factor genes. In: Hew CL, Sherwood N(eds) fish Physiology. New York : Academic Press, 179-209.
- Chen TT, Howard DA, Agellon LB, Lin CM, Davise SL (1998) Estrogen controlled gene expression: induction of two estrogen-responsive genes in the liver of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Physiol Zool 62:25-37.
- Cheng CM, Lin CM, Shambloot M, Gonzalez-Villasenor LI, Power DA, Wood C, Chen TT (1995). Production of a biologically active recombinant teleostean growth hormone in *E. coli* cells. Molec Cell Endocrinol 108:75-85.
- Chong SSC, Vielkind JR (1989) Expression and fate of CAT reporter gene microinjected into fertilized medaka (*Oryzias latipes*) eggs in the from of plasmid DNA, recombinant phage particles and its DNA. Theor Appl Genet 78:369-380.
- Dunham RA, Eash H, Askins J, Townes TM (1987). Transfer of the metallothionein-human growth hormone fusion gene into channel catfish. Trans Am Fish Soc 116:87-91.
- Ebert KM, Schindler JE (1993) Transgenic farm animals: Progress report. Theriogenology 39:121-135.
- Fletcher LG, Davies PI (1991) Transgenic fish for aquaculture. In: JK Setlow (Editor), Genetic Engineering, Vol. 13. Plenum Press, New York, NY pp331-370.
- Gannon F, Powell R, Barry T, Mcevoy TG, Sreenan JM (1990) Transgenic farm animals. J Biotechnol 16:155-170.
- Glazer PM, Sarkar SA, Summers WC (1986) Detection and

- analysis of UV induced mutations in mammalian cell DNA using a lambda phage shuttle vector. Proc Natl Acad Sci USA 83:1041-1044.
- Gordon JW, Scangos GA, Plotkin DJ, Barbosa JA, Ruddle FH (1980) Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. Proc Natl Acad Sci USA 77:7380-7384.
- Lu JK, Chrisman CL, Andrisani OM, Dixon JE, Chen TT (1992) Integration expression and germline transmission of foreign growth hormone gene in medaka, *Oryzias latipes*. Molec Mar Biol Biotechnol 1:366-375.
- Leaver MJ, Pirrit L, George SG (1994) Cytochrome P450 I A I cDNA from plaice(*Pleuronectes platessa*) and induction of P450 I A I mRNA in various tissues by 3-methylcholanthrene and isosafrole. Molec Mar Biol Biotech 2:338-345.
- Curse KS (1988) Fish gene transfer. Lecture at the Symposium on Transgenic Technology in Medicine and Agriculture, December 12-5, 1988, at NIH, Bethesda, MD.
- Inoue K, Yamashita S, Hata J, Kabeno S, Asada S, Nagahis E, Fujita T (1990) Electroporation as a new technique for producing transgenic fish. Cell Diff Dev 29:123-128.
- Moav B, Liu Z, Groll Y, Hackett PR(1992) Selection of promoters for gene transfer into fish. Molec Mar Biol Biotechnol 1:338-345.
- Müller F, Lvcics Z, Erdélyi F, Papp T, Váradi L, Horváth L, Maclean N, Orbán L (1992) Introduction of foreign genes into fish eggs using electroporated sperm as a carrier. Mol Mar Biol Biotech 1:276-281.
- Müller F, Lele ZS, Váradi L, Menczel L, Orbán L (1993) Electroporation and *in vivo* luciferase assay of fertilized fish eggs. FEBS Lett 324:27-32.
- Ozato K, Kondoh H, Inohabra H, Iwamatus Y, Okada TS (1986) Production of transgenic fish and introduction and expression of chicken  $\delta$ -crystallin gene in medaka embryos. Cell Differ 99:237-244.
- Ozato K (1993) Gene transfer in medaka. Biol Int 28:107-110.
- Paynter K, Chen TT(1991). Biological activity of biosynthetic rainbow trout growth hormone in the eastern oyster, (*Crassostrea virginica*). Biol Bull 181:459-462.
- Powers DA, Hereford L, Cole T, Creech K, Chen TT, Lin CM, Kight K, Dunham R (1992) Electroporation: A method for transferring genes into the gametes of zebrafish(*Brachydanio rerio*), channel catfish(*Ictalurus punctatus*) and common carp(*Cyprinus carpio*). Mil Mar Biol Biotech 1:301-308.
- Schulte PM, Down Ne, Donaldson EM, Souza LM (1989) Experimental administration of recombinant bovine growth hormone juvenile rainbow trout(*Salmo gardneri*) by injection or immersion. Aquaculture 76:145-152.
- Schedl A, Beerman F, Thies E, Montoliu L, Kelsey G, Schütz G (1992) Transgenic mice generated by pronuclear injection of a yeast artificial chromosome. Nucl Acids Res 20(12): 3073-3077.
- Sin FYT, Bartley AL, Walker SP, Sin IL, Symonds JE, Hawke L, Hopkins CL (1993) Gene transfer in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) by electroporating sperm in the presence of pRSV-lacZ DNA. Aquaculture 117:57-69.
- Strom DK, Postlind H, Tukey RH (1992). Characterization of the rabbit CYPIA1 and CYPIA2: genes: developmenatal and dioxin-inducible expression of rabbit liver P450IA1 and P450IA2. Arch Biochem Biophys 294:707-716.
- Wall RJ, Bolt DJ, Frels WI, Hawk HW, King D, Pursel VG, Rexroad CE Jr, Rohan RM (1990) Transgenic farm animals: current state of the art. AgBiotech News Info 2(3):391-395.
- Westerfield M (1993) The Zebrafish Book: A Guide for the Laboratory Use of Zebrafish(*Brachydanio rerio*). University of Oregon Press, Eugene, OR.
- Zhang P, Hayat M, Joyce C, Gonzales-Villasenor LI, Lin C-M, Dunham R, Chen TT, Powers DA (1990). Gene tranfer, expression and inheritance of pRSV-Rainbow Trout-GH-cDHA in the carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus). Molec Reprod Devel 25:3-13.
- Zhu ZM, Li G, He L, Chen S (1985) Novel gene transfer into the fertilized eggs of gold fish(*Carassius auratus* L. 1758). Z Angew Ichthyol 1:31-34.