

Н.М. ИСАЕВА, С.Ю. МОРОЗОВ-ЛЕОНОВ
 Институт зоологии им. И.И. Шмальгаузена НАН Украины
 01601, Киев, ул. Б. Хмельницкого, 15
 E-mail: morleone2000@hotmail.com

ТРАНСГЕННЫЕ РЫБЫ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ



Трансгенные рыбы — объект исследования специалистов разных отраслей. Представляется заманчивым выращивание объектов, которые обладают ускоренным ростом, устойчивостью к болезням, неблагоприятным факторам среды, и являются индикаторами различных загрязнений, моделями для онкоисследований и т.п. В обзоре изложены методические, рыбоводные, медицинские, природоохранные аспекты изучения трансгенных рыб.

© Н.М. ИСАЕВА, С.Ю. МОРОЗОВ-ЛЕОНОВ, 2007

Введение. В настоящее время все интенсивнее используются новейшие биотехнологические методы, в частности ДНК-технологии. Введение в геном чужеродных генов, кодирующих те или иные признаки, позволяет получать генетически модифицированные (ГМ), или так называемые трансгенные организмы. Наибольший интерес для геновой инженерии представляют объекты, используемые в качестве продуктов питания или для фармацевтических целей. В отдельных областях производства масштабы использования трансгенов значительны: так, ГМ соя занимает 55 % площадей, отведенных в мире под эту культуру; ГМ кукуруза — 11 %, ГМ хлопчатник — 21 %, ГМ рапс — 16 % [1]. Около 2/3 всех продовольственных товаров, продающихся в США, содержат ГМ-компоненты [2].

Выделяют четыре активно развиваемых направления с использованием ГМ организмов: изучение молекулярных механизмов экспрессии генов; исследование механизмов дифференцировки соматических клеток в онтогенезе многоклеточных животных; работы по изменению физиологического статуса животных; моделирование наследственных и приобретенных заболеваний. Два последних направления являются основой современной и будущей генотерапии [3].

Рыбы в качестве объекта генетических исследований имеют ряд преимуществ: они позволяют получать большие количества яйцеклеток, визуально контролировать онтогенез потомства, манипулировать его пloidностью и половой структурой. Создание ГМ рыб направлено на получение форм: 1) с повышенным потенциалом роста (эффективностью конвертации корма); 2) толерантных к факторам среды; 3) как биоиндикаторов химического загрязнения; 4) с целью сохранения исчезающих видов рыб; 5) в качестве модельных объектов для медицины и пр.

Целенаправленные молекулярно-генетические исследования рыб начаты с 1978 г., но наиболее показательные результаты получены после 1995 г. с внедрением в мировую практику ДНК-биотехнологий таких методов, как ПЦР [4]. Первые сведения о ГМ рыбах — микиже *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792 и серебряном карасе *Carassius auratus* Linnaeus, 1758 — появились в 1984–1985 гг. К настоящему времени этот список значительно расширен [5]: аркти-

чешская минога *Lampetra japonica* Martens, 1868; сибирский осетр *Acipenser baerii* Brandt, 1869; щука *Esox lucius* Linnaeus, 1758; лосось атлантический *Salmo salar* Linnaeus, 1758; кижуч *Oncorhynchus kisutch* Walbaum, 1792; чавыча *Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum, 1792; лосось Кларка *Oncorhynchus clarkii* Richardson, 1836; нерка *Oncorhynchus nerka* Walbaum, 1792; кета *Oncorhynchus keta* Walbaum, 1792; полосатый данио *Danio rerio* Hamilton, 1822; карп *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758; белый толстолобик *Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1844; роху *Labeo rohita* Hamilton, 1822; китайский черный лещ *Megalobrama amblycephala* Yih, 1955; обыкновенный вьюн *Misgurnus fossilis* Linnaeus, 1758; дальневосточный вьюн *Misgurnus anguillicaudatus* Cantor, 1842; канальный сомик *Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818; североафриканская зубатка *Clarias gariepinus* Burchell, 1822; медака *Oryzias latipes* Temminck & Schlegel, 1846; дорада *Sparus aurata* Linnaeus, 1758; красный тай *Pagrus major* Temminck, Schlegel, 1843; светлоперый судак *Stizostedion vitreum* Mitchill, 1818; нильская тилapia *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758 и другие виды.

Методические аспекты проблемы. Получение ГМ рыб осуществляется несколькими методами. Механическое внедрение ДНК в клетки производится либо путем электропорации (введения ДНК через капилляр под действием электрического тока), либо непосредственно путем микроинъекции ДНК и часто приводит к появлению мозаичных особей, лишь часть клеток которых содержат внедренный ген. Внедрение ДНК при посредстве ретровирусов осуществляется в два этапа: получение рекомбинантного ретровируса, содержащего внедряемый ген, и введение ретровируса в трансформируемые клетки. Имплантация чужеродных первичных зародышевых клеток: возможна имплантация ранее трансформированных первичных зародышевых клеток в неоплодотворенные яйцеклетки либо стерилизованным рыбам [6].

Выживаемость эмбрионов рыб после микроинъекций довольно высока — от 35 до 80 %, а доля ГМ потомков колеблется от 10 до 70 % [3]. Трансген можно обнаружить с помощью ПЦР с использованием либо препаратов эритроцитов зародышей, либо суммарной ДНК. Скре-

пчивая ГМ рыб, можно выводить трансгенные линии, гомозиготные по внедренному гену.

Показано, что уровень экспрессии может варьировать (в зависимости от типа вектора) в пределах двух порядков. Для всех векторов использовали одни и те же регуляторные мотивы (из состава промотора гена β-актина карпа), а также включение нескольких сайтов поликлонализации и рестрикционных сайтов для оперативного разграничения «рыбных» и «нерыбных» фрагментов трансгенной экспрессионной конструкции. Эффективным считается включение в вектор ретровирусных последовательностей гена интегразы. Приведены результаты экспрессии с разных векторов онкогенов *c-ski* и *c-erbA* данио *D. rerio* [7].

Промоторы, в норме активные в ядрах растений, насекомых и простейших (т.е. эволюционно удаленных от рыб таксонов), способны экспрессировать чужеродный генетический материал в процессе раннего развития рыб (на примере вьюна *M. fossilis*). Определенные последовательности бактериальной ДНК изменяют функционирование эукариотических промоторов, повышая уровень экспрессии [8].

Методами микроинъекций в оплодотворенные яйцеклетки (4 тыс. особей карпа и 700 — сибирского осетра) и электропорации сперматозоидов в сочетании с обработкой диметилсульфоксидом (ДМСО) и термическим шоком получены ГМ особи обоих видов. От производителей карпа получили гибридное потомство (интактная ♀ × ♂ ГМ), расщепление внутри которого по трансгену варьировало от 1:1 до 1:7. Копийность трансгена составила от единиц до нескольких десятков на геном. Электропорация, термический шок, ДМСО способны увеличивать на порядок эффективность захвата спермиями ДНК из раствора, обеспечивая перенос и, как минимум, транзientную экспрессию трансгена у личинок карпа и сеголетков осетра на 75–90 % изученных случаев [9].

Линейный фрагмент ДНК реконструированного гена с МТsGH инъецировали в оплодотворенные икринки карася. Частота интеграции гена в геном рыбы составила 36,4 %, частота трансляции гена у ГМ рыб — 25 % [10].

Кодирующая последовательность гена белка зеленой флюоресценции (GFP) клонирова-

на под контролем промотора гена β -актина карпа. Рекомбинантный GFP был пересажен в оплодотворенные зиготы с помощью микроинъекции; примерно через 48 ч наблюдали флюоресценцию [11]. Интродукция чужеродных генов успешно проведена с использованием метода «Particle-Gun» с геном-репортером GFP. Для ГМ медаки *O. latipes* показана стабильная передача трансгена и его профили экспрессии до 4-го поколения. У взрослых рыб интенсивная флюоресценция ограничена скелетной мускулатурой и глазными линзами. Более слабое свечение отмечено в мозге, жабрах, сердце, почках, селезенке и яичниках [12].

Сконструирован вектор экспрессии, содержащий промотор, ген фактора элонгации медаки *O. latipes* и красного флюоресцентного белка (RFP) в качестве репортера. По данным стереофлюоресцентной микроскопии, чувствительность регистрации RFP-сигнала не уступает стандартному GFP. Уровень экспрессии RFP у ГМ мальков оказался столь же высоким, как и у оплодотворенной икры, выживаемость икринок — примерно 88 %, а число трансгенных RFP-экспрессирующих личинок — до 2,6 % общего числа ГМ оплодотворенных икринок [13].

В икринки арктической миноги *L. japonica* инъецировали генные конструкции, в которых последовательность, кодирующая GFP, располагалась с 3'-конца по отношению к вирусному промотору или 5'-регуляторным районам актиновых генов медаки. Хотя экспрессия была мозаичной и отличалась у разных особей, GFP обычно экспрессировался в поперечно-полосатой мускулатуре эмбрионов миноги, если запускался 5'-районами актиновых генов медаки [14].

GFP у ГМ данио и медаки использовали для анализа паттернов экспрессии генов, развития тканей и органов, выявления промоторов и энхансеров, клеточных клонов и наведения аксонов, клеточной локализации белковых продуктов, ядерной трансплантации и пр. GFP-модифицированные рыбы использовались также для выявления вышестоящих регуляторных факторов, мутагенного скрининга характеристики промоторов и энхансерных ловушек [15].

На данио установлено, что трансген *zpc* 05: GFP экспрессируется исключительно в ооцитах с началом дифференцировки, специфичной для самок, и паттерн его экспрессии сходен

с диким типом *zpc*. Строгая экспрессия GFP сохраняется в течение всего оогенеза. Охарактеризован предполагаемый вышестоящий фактор *zpc*, FIGalpha и показано, что распределение РНК FIGalpha сравнимо с предполагаемой его ролью в регуляции *zpc* [16].

Применен метод модификации клонов ВАС, содержащих геномный локус GATA-2 полосатого данио. В этом локусе первый экзон заменен на ген-репортер GFP. Модификация не ведет к дополнительным делециям и перестройкам в ВАС. На эмбрионах данио проведен анализ экспрессии гена GATA-2 в коже, центральной нервной системе, гемопоэтических прародительских клетках. В последних модифицированные клоны ВАС менее мозаичны и лучше экспрессируют GFP, чем более короткие плазмидные конструкции [17].

Несмотря на значительные успехи, в генной инженерии остаются нерешенными многие вопросы. Ведется разработка новых или модификация существующих технологий введения ДНК, а также способов повышения интеграции вводимого генетического материала за счет усовершенствования генетических векторов [3].

Рыбоводные аспекты проблемы. Считается возможным применение метода ГМ при товарном выращивании рыб. К числу перспективных относят трансгенез генов антифризного белка при культивировании рыб в холодных водах Канады, транслокацию генов гормона роста (GH) и пр. [18]. К 1995 г. полные геномные нуклеотидные последовательности генов GH выделены более чем у 20 видов рыб; для некоторых из них показана эффективность введения в экспрессионные конструкции, основанные на разных типах векторов [19].

Предполагается, что использование генов, кодирующих GH, сократит на 30–50 % сроки получения товарной продукции; генно-инженерная коррекция обменных процессов повысит эндогенную обеспеченность рыб витаминами, улучшит переваримость кормов, интенсифицирует пластические процессы и снизит кормовые затраты на 20–25 % [20].

Получены первичные ГМ производители рыб и последующие потомства, ставшие в ряде стран (США, Канада, Россия, Великобритания, Китай, Израиль, Япония и др.) предметом пристального изучения, показана реальность исполь-

зования ГМ рыб, модифицированных чужеродным, но родственным геном ГН. Так, на базе ВНИПРХ получено свыше 5000 особей карпа, модифицированных ГН белого толстолобика и геном инсулиноподобного фактора роста I кеты. Созданы группы ГМ производителей карпа, получено потомство, доказано наследование признака, кодируемого трансгеном [20].

ГМ особи карпа, которые получены после микроинъекций конструкции, содержащей хромосомную копию гена соматотропина белого толстолобика под контролем промотора гена металлотионеина «а» радужной форели, в оплодотворенные яйцеклетки, выращивались совместно с контрольными особями в лабораторных условиях до двухлетнего возраста. ГМ рыбы имели в среднем большие на 40 % массу тела и на 17 % длину тела, чем в контроле. Ускоренный темп роста был унаследован и гибридными особями (от ГМ ♂♂ и интактных ♀♀). Случайные выборки из трех таких потомств с теоретическим расщеплением от 1:1 до 1:7 при совместном содержании и кормлении с добавлением цинка (100 мг на 1 кг) в течение 6 мес продемонстрировали четкое разделение их на «быстрорастущих» и «нормальных» особей, не отличавшихся по темпам роста от контрольных. Амплитуда расхождения по показателю массы тела между ГМ и контрольными особями достигала 300 % [21].

С помощью передачи через электропорированные спермии векторов, которые несут промотор CMV или промотор β-актина белого амура, связанный с кДНК гормона роста, получено три линии быстрорастущих роху *L. rohita*. Эффективность передачи генов составила 25 %. Линия с CMV имела четырехкратное увеличение скорости роста [22].

Проводили микроинъекцию гена ГН лососевых 15 тыс. особей карпа. Получено 189 ГМ особей с интегрированным чужеродным геном соматотропина, что подтверждено дот-блот и Саузерн-блот гибридизацией. Масса ГМ карпа в 1,8 раза больше, чем самой крупной контрольной рыбы [23].

В опыте на 10 тыс. ГМ карпов с введенным геном ГН от лосося статистически доказано, что влияние трансгенеза проявлялось лишь у небольшого числа особей. У потомков 43 % особей имели внедренный ген ГН рыб, но только 14 % имели признак быстрого роста. Масса

ГМ рыб вдвое превышала массу у карпов в контроле [24].

Годовики ГМ нерки, полученные при введении в яйцеклетки генетической конструкции ГН, крупнее в размерах и быстрее прибавляют в весе, чем контрольные особи: превышение может достигать 11 раз [3]. Показано, что у ГМ по ГН кижучей площадь поверхности кишечника в 2,2 раза больше, чем у контрольных рыб. Они имеют большее количество складок слизистой, что, возможно, является компенсаторным проявлением их быстрого роста [25].

Сравнивали метаболическую активность и активность пищеварительных ферментов у ГМ и обычных кижучей, обладающих разным темпом роста. Не отмечено различий между группами рыб по активности цитратсинтетазы, трипсина и щелочной фосфатазы. Предполагается, что их активность не является определяющей в темпе роста ГМ рыб [26].

Получены ГМ линии тилапии *O. niloticus* с ускоренным ростом. На них изучены триплоидия, нокаут генов (кодирующих жизненно важные гормоны) с помощью гомологичной рекомбинации, инактивация функций этих генов с помощью рибозимов и антисмысловых технологий [27].

Проведены эксперименты по получению ГМ перцины *Percina sp.*, несущей челночный плазмидный вектор pML 4, для определения наличия мутагенов в водной среде. Плаزمида содержит ген *gfpL* из *Escherichia coli* в качестве мишени действия мутагенов и ген устойчивости к канамицину для отделения интегрированной плазмидной ДНК от хромосомальной в процессе анализа.

Для оценки эффективности данной системы эмбрионы ГМ рыб обрабатывали тремя препаратами, вызывающими дозозависимое увеличение частоты мутаций гена-мишени. Спектр полученных мутаций соответствовал предложенному механизму мутагенеза [28].

Генетики из Университета Стирлинга (Великобритания) получили ГМ форму лосося, устойчивую к низким температурам. По мнению Барминцева [20], использование генов, повышающих толерантность организма рыб к неблагоприятным факторам среды, расширит границы параметров выращивания, а применение генов, ответственных за синтез факторов ус-

тойчивости к болезням различной этиологии, снизит в 2–3 раза гибель рыб от эпизоотий.

Выделены соматические клетки белого амура *C. idella*, для которых подтверждено носительство генетического фактора, детерминирующего резистентность к FRV (вирус геморрагической болезни у карповых), и наличие нормального хромосомного числа. Эти клетки с помощью метода электрослияния соединяли с неоплодотворенными клетками своего вида, после оплодотворения получали бластулы, из которых выделяли бластомеры, которые опять методом электрослияния соединяли с неоплодотворенными яйцеклетками. Всего получено 8 выклюнувшихся личинок, 1 особь удалось подрастить до сеголетка. Анализ этой ГМ рыбы подтвердил сохранение у нее исходного генотипа, связанного с проявлением фактора FRV. Авторами [29] сообщается о проведении исследований по прямому анализу резистентности рыбы к указанному заболеванию.

Запатентован способ повышения устойчивости рыб к болезням, вызываемым внутриклеточными бактериями, простейшими и вирусами, при введении в клетки хозяина чужеродного гена, кодирующего природный или синтетический литический пептид [30]. Клонирован ген IL-1B у дорады *S. aurata* и получен рекомбинантный белок с целью использования его в аквакультуре как иммуностимулятора [31].

Медицинские аспекты проблемы. Национальный институт здоровья (США) рекомендует полосатого данио в качестве наиболее подходящего модельного объекта для генетических исследований при разработке вопросов развития, физиологии и болезней у позвоночных. Функционируют Zebrafish International Resource Center и Zebrafish Information Network [32]. ZEIN (<http://Zfin.org>) является местом обсуждения и объединения данных по генетике, геномике данио, а также в нем представлена информация о мутантах, генетических маркерах, панелях картирования, публикациях и контактных данных исследователей [33].

Доказано, что мутантные фенотипы полосатого данио являются аналогами человеческих фенетиков врожденной сидеробластической анемии, врожденного сфероцитоза и эллиптоцитоза, гемолитической анемии, врожденной дизэритропоэтической анемии, гипохромной

микроцитарной анемии (талассемии), порфирии. У гипохромного мутанта Weissherst (Weh) идентифицирован ген ферропортин L, мутация ортолога которого выявлена у больных гемохромозом IV типа. Получена ГМ модель Т-клеточной лейкемии (у лейкозных рыб развивается ярко выраженная инфильтрация кожи, плавников, мышц, глаз, почек, кишечника). У полосатых данио выявлен ортолог человеческого гена *fancl 2*, ответственного за развитие у рыб характерного для анемии Фанкони морфотипа (микроцефалия, микрофтальмия, укороченное тело), который определяется иницирующим апоптоз фактором p53 (в результате блокады экспрессии p53 морфотип нормализуется). Данио рассматривается в качестве адекватной модели для анализа генетических механизмов болезней крови человека и разработки методов их терапии [34], а также для моделирования процессов опухолеобразования.

С целью выяснения роли белка, связывающего жирные кислоты (L-FABP) в тканеспецифической регуляции в гепатогенезе у данио, выделены 5'-фланкирующие последовательности гена L-FABP и применена стратегия с использованием GFP для создания ГМ рыб со специфической печенью. Характер экспрессии в ГМ организме соответствовал экспрессии эндогенного гена. Частота наследования в F2 (42–51 %) во всех семи ГМ линиях соответствовала расщеплению по Менделю. В изоформах *hhtx* и *zXbp-1* обнаружены видимые дефекты печени, что предполагает возможность разработки системы *in vivo* для скрининга генов, необходимых для развития печени [35].

Природоохранные аспекты проблемы. Запатентованный ГМ лосось *S. salar* рекомендован для коммерческого разведения (США). Однако специалистами высказываются опасения о его непредсказуемом воздействии на природные экосистемы вследствие случайного «ухода» из мест разведения [36]. Считается, что риск нивелируется пониженной приспособляемостью ГМ рыб. Но учитывая, что экосистемы характеризуются нестабильностью, а не равновесностью и подвержены случайностям, то возможно, что и небольшое число ГМ рыб может изменить состояние экосистем при определенных условиях. Делаются попытки прогнозирования возможных последствий при ис-

пользовании ГМ рыб в промышленном разведении на биоразнообразии: в качестве примеров приводят воздействие вселенных видов рыб на аборигенную ихтиофауну.

Побуждают к осторожности и результаты исследований по генетическому мониторингу ситуации ухода из мест выращивания обычных (без генетической модификации) рыб, в частности атлантического лосося [37]. Учитывалось, что генетический состав аборигенных популяций и рыбоводных линий существенно различаются. Для оценки генотипов в эксперименте в одном из рыбоводств Ирландии применен метод фингерпринтинга ДНК с семью минисателлитными зондами. Установлено, что в целом фермерская молодежь лосося имеет значительно меньшую выживаемость после попадания в естественные водоемы в сравнении с нативными выборками. Однако выжившие «беглецы» растут быстрее и могут в нижних течениях рек практически полностью вытеснять наиболее мелких аборигенных особей. Гибридные рыбы по большинству тестируемых признаков оказываются ближе к «беглецам», чем к аборигенам. Делается вывод, что даже отдельные ушедшие с рыбоферм особи способны оказывать долговременный и существенный эффект на природные популяции, в связи с чем исследователи говорят о необходимости повышения уровня защиты рыбоводных емкостей от уходов рыбы, а также о недопущении зарыбления естественных водоемов генетически непроверенной молодежью, полученной в системе искусственного воспроизводства.

Итак, несмотря на то, что массовое получение ГМ организмов сулит выгоды, оно ставит международное сообщество перед проблемой строгого контроля над разработками в области генной инженерии. Наряду с успехами в развитии отрасли в мире нарастают протесты против технологии «генов-терминаторов», призывы к защите окружающей среды от вторжения ГМ организмов, указывается на необходимость маркировки продукции, содержащей ГМ компоненты [38]. Считается, что современных научных данных недостаточно для оценки потенциального риска для нативных экосистем. Необходимы независимые научные исследования, возможность для общественности участвовать в принятии решений; тестирование и монито-

ринг при любой интродукции ГМ объектов [36]. Высказываются опасения, что полученные с помощью трансгенеза продукты питания могут негативно влиять на здоровье людей. Недостатком метода является также его дороговизна [39]. Предполагаемые выгоды от используемого метода могут быть не столь уж велики.

Сложность оценки риска потребовала нового подхода к оценке безопасности ГМ продуктов, и в 1993 г. Организация экономического сотрудничества и развития (OECD) сформулировала концепцию «эквивалентности по существу» (substantial equivalence). Ее смысл состоит в определении не абсолютной безопасности ГМ продукта, а относительной: за исходный уровень безопасности принимается традиционный аналог ГМ продукта. Вначале проводится идентификация различий, на которых затем основывается оценка безопасности.

SUMMARY. Transgenic fishes are the object for the specialists in different research fields. It seems very promising to cultivate the rapidly growing objects resistant to diseases and negative environmental factors as well as the indicators of pollutions, models for oncological investigations etc. Some methodical, piscicultural, medical, ecological and others aspects of investigations of transgenic fishes as well as the legislative basis of Ukraine on this problem are discussed in the article.

РЕЗЮМЕ. Трансгенні риби є об'єктом досліджень фахівців різних напрямів. Вважається вигідним вирощування об'єктів, які мають прискорений ріст, стійкість до хвороб, несприятливих факторів середовища або таких, які були б індикаторами забруднень, моделями для онкодосліджень і т. п. В огляді подані методичні, рибоводні, медичні, природоохоронні аспекти вивчення риб-трансгенів та законодавча база України з цієї проблеми.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРИ

1. *Топчий Т.* Генетично модифіковані організми і біобезпека: огляд основних питань. — К., 2004. — 20 с.
2. *Биотехнология* в современном мире: польза и риски / Под ред. Я.Б. Блюма // *Цитология и генетика.* — 2002. — 36, № 1. — С. 59–80.
3. *Глазко В.И., Глазко Г.В.* Введение в генетику: биотехнология, ДНК-технология, генная терапия, ДНК-экология, протеомика, метаболика. — К.:КВИЦ, 2003. — 640 с.
4. *Якубов Ш.А., Прель Э.Т., Суворова Т.Ф., Якубова Д.Ш.* Определение скрытого генетического ущерба рыб-

- ному хозяйству от загрязнения окружающей среды // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. Экология : Сб. науч. тр. — Астрахань, 2002. — С. 1129–134.
5. Beardmore J.A., Porter J.S. Genetically modified organisms and agriculture. FAO Fisheries Circular No. 989 FIRC/C989(E) ISSN 0429-9329. University of Wales Swansea (United Kingdom). — Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2003. — 40 p.
 6. Levy J.A., Marins L.F., Sanches A. Gene transfer technology in aquaculture // Hydrobiology. — 2000. — 420, № 1. — P. 91–94.
 7. Hackett P.B., Caldovic L., Fahrenskrug S. et al. Development of expression on vectors and their transfer into transgenic fish // 37th Conf. Int. Assoc. Great Lakes. Res. and Estuarine Res. Fed. (Windsor. June 5–9, 1994). — Windsor, 1994. — P. 146–147.
 8. Муха Д.В., Андреева Л.Е., Ильичев А.В. Анализ экспрессии чужеродного генетического материала под контролем гетерогенных промоторов в процессе раннего развития вьюна (*Misgurnus fossilis* L.) // Генетика. — 1996. — 32, № 10. — С. 1387–1991.
 9. Барминцев В.А., Шан Лицзюань, Рекубретский А.В., Дума Л.Н. Получение трансгенных карпов (*Cyprinus carpio*) и осетров (*Acipenser baeri*) с использованием «all fish» рекомбинантной конструкции prtMTa-scGH // I Конгресс ихтиологов России (Астрахань, сент. 1997 г.) : Тез. докл. — Астрахань, 1997. — С. 347–348.
 10. Yang J., Sun X.-W., Li Y.-L. et al. Реконструкция гена с MTsGH, его интеграция и трансляция у золотого карася // Dongwuxue zazhi = Chin. J. Zool. — 2002. — 37, № 4. — P. 10–13.
 11. Su J.-M., Zhang H.-Y., Xiao T.-Y. et al. Конструкция рекомбинантного гена белка зеленой флуоресценции и его экспрессия в зиготах у рыб // Shuichan xuebae = J. Fish. China. — 2003. — 27, № 5. — P. 409.
 12. Kinoshita M., Yamauchi M., Sasanuma M. et al. A transgene and its expression profile are stably transmitted to offspring in transgenic medaka generated by the particle gun method // Zool. Sci. — 2003. — 20, № 7. — P. 869–875.
 13. Long H., Ozato D., Wakamatsu Y., Matsushima R. Экспрессия гена красного флуоресцентного белка (RFP) в трансгенной медаке *Oryzias latipes* // Zhongguo shuichan kexue = J. Fish Sci. China. — 2002. — 9, № 2. — P. 97–99.
 14. Kusakabe R., Tochinai Sh., Kuratani Sh. Expression of foreign genes in lamprey embryos: An approach to study evolutionary changes in gene regulation // J. Exp. Zool. B. — 2003 — 296, № 1. — P. 87–97.
 15. Gong Z., Ju B., Wan H. Green fluorescent protein (GFP) transgenic fish and their applications // Genetica. — 2001. — 111, № 1/3. — P. 213–225.
 16. Onichichouk D., Aduroja K., Belting H.G. et al. Transgene deriving GFP expression from the promotor of the zona pellucida gene *zpc* is expressed in oocytes and provides an early marker for gonad differentiation in zebrafish // Dev. Dyn. — 2003. — 228, № 3. — P. 393.
 17. Jessen J.R., Meng A., McFarlane R.J. et al. Modification of bacterial artificial chromosomes through Chi-stimulated homologous recombination and its application in Zebrafish transgenesis // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1998. — 95, № 9. — P. 5121–5126.
 18. Hew C.L., Fletcher G.L., Davies P.L. Transgenic salmon : Tailoring the genome for production // J. Fish Biol. — 1995. — 47, Suppl. — P. 1–19.
 19. Xu Bin, Zhang P., Li D. Достижения в изучении молекулярных параметров гормона роста рыб и его практическом использовании // Haiyang yu hushao = Oceanol. et limnol. sin. — 1997. — 28, № 5. — С. 333.
 20. Барминцев В.А. Развитие исследований по созданию трансгенных рыб и перспективы их использования в аквакультуре России // I Конгресс ихтиологов России (Астрахань, сент. 1997 г.) : Тез. докл. — Астрахань, 1997. — С. 347.
 21. Дума Л.Н., Дума В.В., Рекубретский А.В., Барминцев В.А. Особенности роста трансгенных карпов родительского поколения и TgF1 в норме и при индукции МТ-а промотора ионами цинка // I Конгресс ихтиологов России (Астрахань, сент. 1997 г.) : Тез. докл. — Астрахань, 1997. — С. 354.
 22. Venugopal T., Anathy V., Rirankumar S., Pandian F.J. Growth enhancement and food conversion efficiency of transgenic fish *Labeo rohita* // J. Exp. Zool. — 2004. — 301, № 6. — P. 477–490.
 23. Liang L., Sun X., Shen J. et al. Получение трансгенного «суперкарпа» // Gaojushu tungxun = High Technol. Lett. — 1999. — 9, № 4. — P. 52–54.
 24. Sun X., Liang L., Yan X., Cao D. Более быстрый рост трансгенного обыкновенного карпа и его потомков с геном гормона роста // Ibid. — 2002. — 26, № 5. — P. 391–395.
 25. Stevens E.D., Devlin R.H. Intestinal morphology in growth hormone transgenic coho salmon // J. Fish. Biol. — 2000. — 56, № 1. — P. 191–195.
 26. Biler P.U., Lemeieux H., Devlin R.H. Is the growth rate of fish set by digestive enzymes or metabolic capacity of the tissues? Insight from transgenic coho salmon // Aquaculture. — 2002. — 209, № 1/4. — P. 379–384.
 27. McLean N., Rahman M.A., Sohm F. et al. Transgenic tilapia and the tilapia genome // Gene. — 2002. — 295, № 2. — P. 265–277.
 28. Amanuma K., Takeda H., Amanuma H., Aoki Y. Transgenic zebrafish for detecting mutations caused by compounds in aquatic environment // Nature Biotech. — 2000. — 18, № 1. — P. 62–65.
 29. Yu L., Zuo W., Fang Y., Zheng W. Получение генно-инженерного потомства белого толстолобика путем комбинирования методов электрослияния и

- трансплантации ядер // Shuichan хуебао = J. Fish. China. — 1996. — **20**, № 4. — P. 314–318.
30. *Cooper R.K., Enright A.M.* Transgenic fish capable of expressing exogenous lytic peptides. Patent 5998698 USA, МПК6 C12N 15/00 — Board of Supervisors of Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College — № 08/49/609. Заявл. 07.06.95. Оpubл. 07.12.99. нпк 800/20.
31. *Pelegrin P., Garsia-Castelo J., Sepulcre M.P., Mulero V., Meseguer J.* Utilizacion de citoquinas recombinantes para la prevention de infecciones en piscicultura: una realidad o una utopia? // Bol. Inst. esp. oceanogr. — 2002. — **18**, № 1/4. — P. 189–193.
32. *Rasooly R.S., Henken D., Freeman N. et al.* Genetic and genomic tools for Zebrafish research : The NIH Zebrafish initiative // Dev. Dyn. — 2003. — **228**, № 3. — P. 490–496.
33. *Sprague J., Clements D., Cjulin T. et al.* The zebrafish Information Network (ZEIN): The zebrafish model organism database // Nucl. Acids. Res. — 2003. — **31**, № 1. — P. 241–243.
34. *Berman J., Hsu K., Look A.T.* Zebrafish as a model organism for blood diseases // Brit. J. Haematol. — 2003. — **123**, № 4. — P. 568–576.
35. *Her G.M., Chiang C.C., Chen W.-Y., Wu J.-L.* In vivo studies of liver-type fatty acid binding protein (L-FABP) gene expression in liver of transgenic zebrafish (*Danio rerio*) // FEBS Lett. — 2003. — **538**, № 1/3. — P. 125–133.
36. *Doyle D.K.T.* Genetically engineered salmon, ecological risk, and environmental policy // Bull. Mar. Sci. — 2004. — **74**, № 3. — P. 509–528.
37. *McGinnity P., Stone C., Taggart J.B et al.* Genetic impact of escaped farmed atlantic salmon (*Salmo salar* L.) on native populations: use of DNA profiling to asses freshwater performance of. waid farmed and hybrid progeny in a natural river environment // ICES J. Mar. Sci. — 1997. — **54**, № 6. — P. 998–1008.
38. *Weintraub A., Gogoi P.* The outcry over «Terminator» genes // Bus. Week Eur. Ed. — 2003. — № 14. — P. 86–87.
39. *Roberts R.J.* Genetic risks and patents // Fish. Farm. Int. — 1992. — **19**, № 12. — P. 4.

Поступила 06.07.06