Pierwotne komórki zarodkowe (ESC) — charakterystyka oraz możliwości wykorzystania w biotechnologii zwierząt

Dorota Lechniak
Katedra Genetyki
i Podstaw Hodowli Zwierząt
Akademia Rolnicza
Poznań

1. Wstęp

Biotechnologia w produkcji zwierzęcej związana jest głównie z manipulacjami na gametach i zarodkach. Technika dojrzewania i zapłodnienia *in vitro* oocytów pochodzących z jajników rzeźnych samic daje możliwość uzyskania pewnej liczby zarodków w różnych stadiach rozwoju tworzących bazę doświadczalną nie tylko dla transplantacji, ale przede wszystkim dla klonowania i transgenezy. Stosowana od niedawna metoda przyżyciowego pozyskiwania oocytów do wymienionych badań umożliwia produkcję zarodków od rodziców o znanej wartości hodowlanej (9, 26). Metodą dojrzewania i zapłodnienia *in vitro* można uzyskać od 12 – 32% morul i blastocyst w stosunku do liczby oocytów poddanych dojrzewaniu *in vitro* (29).

Dotychczas stosowane metody klonowania zwierząt pozwalają na uzyskanie niewielkiej liczby 4 – 5 osobników pochodzących z jednego zarodka (12).

Stwierdzono, że w zarodku myszy — aż do wczesnego okresu po implantacji — obecne są niezróżnicowane komórki zarodkowe o właściwościach pluripotentnych. Komórki te nazywane są pierwotnymi komórkami zarodkowymi — *Embryonic Stem Cells* — ESC (3). Ich właściwości pluripotentne zostały potwierdzone uzyskaniem chimer — pochodnych pierwotnych komórek zarodkowych (13, 15, 17, 18).

Możliwość uzyskania dużej liczby pluripotentnych komórek pochodzących z jednego zarodka — a więc genetycznie identycznych — stawia dotychczasowe badania w nowym świetle. Jednym z bardzo obiecujących narzędzi biotechnologii w hodowli zwierząt jest umiejętność namnażania takich komórek drogą hodowli *in vitro* oraz ich dalsze wykorzystanie w eksperymentach z zakresu klonowania i transgenezy.

Celem niniejszej pracy jest charakterystyka pierwotnych komórek zarodkowych oraz warunków ich hodowli, a także możliwości ich wykorzystywania w biotechnologii zwierząt.

2. Pierwotne komórki zarodkowe (ESC) a komórki macierzyste (*stem cells*)

Potten i Loeffler (21) zdefiniowali komórki macierzyste w sposób następujący: „komórki macierzyste są niezróżnicowanymi komórkami zdolnymi do (a) proliferacji (b) samozachowawczości, (c) produkcji dużej liczby zróżnicowanych i funkcjonalnych pokoleń komórek potomnych, (d) regeneracji uszkodzonych tkanek oraz (e) elastyczności w realizacji powyższych opcji". Równocześnie wprowadzają oni dwie kategorie komórek macierzystych: funkcjonalne (aktualne) komórki macierzyste — spełniające co najmniej część omawianych w definicji warunków oraz potencjalne komórki macierzyste, które wprawdzie posiadają właściwości komórek macierzystych, lecz do ich ujawnienia dochodzi tylko w specyficznych warunkach. Dokładne zależności istniejące pomiędzy funkcjonalnymi, a potencjalnymi komórkami macierzystymi nie są nadal jasne. W funkcjonalnie dojrzałych tkankach organizmu podstawowym problemem jest utrzymanie równowagi między populacją komórek macierzystych, a populacją komórek zróżnicowanych. W tym kontekście pojęcia komórki macierzystej nie można bezpośrednio odnieść do układu komórek we wczesnym zarodku ssaków nie tylko dlatego, że składa się on raczej z rozprzestrzeniającej się niż odnawiającej populacji komórek, ale również dlatego, że we wczesnym rozwoju zarodka dochodzi do ciągłych zmian stanu komórek zarodkowych. Tym samym pojęcie komórek macierzystych związane jest raczej z biologią komórki niż z embriologią (6). W embriologii funkcjonuje ono pod pojęciem komórek pierwotnych (*progenitor cells*). W tej sytuacji część komórek blastocysty posiada cechy podobne do komórek macierzystych (5). Stwierdzono, że w zarodku myszy do wczesnego okresu po implantacji występują komórki o właściwościach pluripotentnych (3). W stadium później blastocysty wyróżnia się trzy rodzaje tkanek: trofoektodermę, pierwotną ektodermę (epiblast), oraz pierwotną endodermę (hipoblast) (1,6). Należy odpowiedzieć na pytanie, które komórki mają właściwości pluripotentne i w jakim stadium rozwoju zarodka one występują. Stwierdzono, że zarodkowe komórki rakowe (EC — *embryonal carcinoma*) po umieszczeniu ich w odpowiednich warunkach podlegają różnicowaniu *in vitro* w sposób odzwierciedlający rozwój zarodków w macicy w czasie implantacji. W wyniku dalszego różnicowania dają one początek typom komórek pochodzących z trzech wspomnianych tkanek zarodka (8). Badania nad uzyskaniem zarodkowych komórek rakowych wykazały, że ani komórki epiblastu z 6,5-dniowej blastocysty, ani komórki 3,5-dniowego węzła zarodkowego nie wykazują homologii z zarodkowymi komórkami rakowymi. Podobieństwo takie wykazują komórki epiblastu pochodzące z 5,5-dniowego zarodka (3). W 5-dniowym zarodku epiblast jest dostrzegalny w postaci małej populacji komórek w obrębie węzła zarodkowego. Doświadczenia polegające na wprowadzeniu komórek 5-dniowego zarodka do blastocysty sugerują, że komórki — pochodne epiblastu mogą brać udział w powstawaniu wszystkich pochodnych tkanek macierzystych, a epiblast jest zbudowany z jednorodnej populacji komórek pierwotnych (6).

3. Warunki prowadzenia hodowli *in vitro* linii pierwotnych komórek zarodkowych

W stadium blastocysty komórki zarodka różnicują się tworząc zewnętrzną warstwę trofoblastu odgrywającego istotną rolę podczas implantacji zarodka i węzeł zarodkowy (ICM-*inner cell mass*) występujący w postaci grupy komórek znajdujących się po wewnętrznej stronie trofoblastu. Okazuje się, że węzeł zarodkowy izolowany z blastocysty może rozwijać się w warunkach *in vitro*, zatem obecność komórek trofoblastu nie jest konieczna do gastrulacji (1). W celu uzyskania hodowli pierwotnych komórek zarodkowych *in vitro* należy przeprowadzić długotrwałą hodowlę zarodków (cała blastocysta lub izolowany węzeł zarodkowy) na warstwie odżywczej (*feeder layer*) lub w medium zmodyfikowanym, np. przez komórki wątroby szczura Buffalo.

Następujące komórki mogą służyć jako warstwa odżywcza:

— STO — ustalona linia mysich fibroblastów (inaktywowana mitotycznie np. mitomycyną C),

— zarodkowe fibroblasty inaktywowane mitotycznie (mysie, świńskie, bydlęce, owcze itd.),

— komórki wątroby szczura Buffalo (BRL),

— komórki nabłonka macicy (świńskie, bydlęce) lub kombinacja ww. komórek np. STO : BRL w stosunku 1 : 1 (19).

Komórki warstwy odżywczej oddziałują na hodowlę linii zarodkowych hamując procesy ich różnicowania, a prawdopodobnie także wzmagają ich podziały (7). Linie komórek zarodkowych hodowanych w medium zmodyfikowanym przez komórki BRL zachowują się podobnie jak komórki hodowane na warstwach odżywczych (23,24). Okazuje się, że komórki BRL wydzielają czynnik hamujący różnicowanie się komórek hodowanych *in vitro* określony jako DIA (*differentiation inhibiting activity*). Dalsze badania nad naturą czynników hamujących różnicowanie się komórek *in vitro* wykazały, że czynniki DIA, LIF (*myleoid leukemia inhibitory factor*) oraz HILDA (ludzki inhibitor) współdziałają z tymi samymi receptorami zlokalizowanymi na powierzchni mysich pierwotnych komórek zarodkowych (24). Moreau (14) wykazał, że ww. cząsteczki to ta sama glikoproteina. Wprawdzie komórki uzyskane w wyniku hodowli na warstwie odżywczej wykazują wyższy potencjał rozwojowy niż komórki hodowane w medium zmodyfikowanym przez BRL (23), jednak istnieje kilka istotnych czynników przemawiających przeciwko systemowi z wykorzystaniem warstwy odżywczej, a mianowicie:

— wiele czynników jest toksycznych dla warstwy odżywczej przez co może ona w różny sposób oddziaływać poprzez produkty metabolizmu na hodowaną populację komórek,

— równoczesna hodowla dwóch typów komórek komplikuje analizy biochemiczne i molekularne,

— istnieje możliwość transferu DNA z komórek odżywczych do komórek macierzystych co może zmienić genotyp tych ostatnich,

— interakcje pomiędzy dwoma typami komórek mogą zniekształcić obserwowane reakcje pierwotnych komórek zarodkowych na wpływy czynników zewnętrznych (23).

4. Charakterystyka mysich linii pierwotnych komórek zarodkowych

Do tej pory udało się wyprowadzić ustalone linie pierwotnych komórek zarodkowych dla dwóch gatunków: myszy (3) i chomika (2). Uzyskanie chimer po wprowadzeniu pierwotnych komórek zarodkowych myszy do blastocyst (13, 15, 17, 18), a także prawdopodobnie udział tych komórek w tworzeniu linii płciowych chimer potwierdziło ich pluripotentny charakter. Warunki hodowli mysich pierwotnych komórek zarodkowych zostały dokładnie poznane (3, 22). Hodowlę ropoczyna się po umieszczeniu blastocyst na warstwie odżywczej. Blastocysta wykluwa się z osłonki przejrzystej i przyczepia się do warstwy odżywczej wskutek rozrostu trofoblastu w ciągu 24 – 36 godzin. Następnie rozrasta się w ciągu 4 – 6 dni, w tym czasie węzeł zarodkowy daje początek małym skupiskom komórek. Kolonie komórek pochodzące z węzła zarodkowego poddaje się następnie selekcji i rozdrobnieniu poprzez pipetowanie po uprzedniej inkubacji w roztworze trypsyny. Rozdrobnione skupiska komórek przenosi się następnie na warstwę odżywczą, gdzie po rozpłaszczeniu się dają początek małym koloniom komórek. Początkowo komórki warstwy odżywczej mogą zaciemniać obraz, jednak po 2 dniach komórki pochodzące z węzła zarodkowego powinny być widoczne w mikroskopie pod małym powiększeniem. Kolonie należy pozostawić przez 4 dni w celu ustalenia się ich morfologii. Uzyskane kolonie komórek można zakwalifikować pod względem morfologii do kilku grup. Dominującym typem jest trofoblast występujący w postaci obszarów olbrzymich komórek w obrębie warstwy odżywczej lub na jej obrzeżach. Poza tym można zaobserwować typy komórek o morfologii:

— fibroblastów,
— nabłonka,
— nabłonka w pojedynczych koloniach,
— trofoblastu, a także
— pierwotne komórki zarodkowe.

Podstawowym zadaniem jest prawidłowa identyfikacja kolonii pluripotentnych, pierwotnych komórek zarodkowych. Są to zwykle małe komórki z dużym jądrem i małą ilością cytoplazmy, jądro zawiera jedno lub więcej wyraźnych jąderek. Komórki skupione są w ścisłych koloniach stąd identyfikacja pojedynczych komórek jest trudna. Widoczne są one najczęściej na obwodzie kolonii. Pierwotne komórki zarodkowe zachowują w czasie trwania hodowli stały, nie zmieniający się fenotyp. Podlegają one spontanicznemu różnicowaniu w różne typy komórek w przypadku zbytniego zagęszczenia hodowli lub utraty kontaktu z warstwą odżywczą (komórki zawieszone w medium).

Aby zapobiec spontanicznemu różnicowaniu kolonie komórek rozprasza się w odstępie 4 – 5 dni i przenosi na świeże podłoże (22). Linie pierwotnych

komórek zarodkowych chomika (2) wyprowadzono w oparciu o metodykę opracowaną dla zarodków myszy (3). Uzyskanie mniejszej liczby linii komórkowych w stosunku do wyjściowych blastocyst (1%) w porównaniu z hodowlą linii myszy (10%) może wskazywać na odmienne niż u myszy zachowanie się i wymagania zarodków chomika w okresie po implantacji. Uzyskane linie pierwotnych komórek zarodkowych chomika poddano mrożeniu, rozmrożeniu i utrzymywano w hodowli przez okres 3 miesięcy bez zmian fenotypu (2).

5. Ogólna charakterystyka linii komórek zarodkowych pozyskanych z blastocyst zwierząt gospodarskich

Podstawowe gatunki zwierząt gospodarskich czyli: bydło, owce, świnie i konie należą do rzędu kopytnych. Różnice występujące w rozwoju zarodków myszy i zwierząt kopytnych wykluczają możliwość bezpośredniego zastosowania systemu hodowli pierwotnych komórek zarodkowych, opracowanego dla myszy w hodowli tego typu komórek u kopytnych (16). Fakt ten należy brać pod uwagę tym bardziej, że zastosowanie modelu opracowanego dla myszy w stosunku do chomików wymagało wprowadzenia pewnych modyfikacji uwzględniających specyfikę rozwoju zarodkowego tego gatunku (2).

Rozwój węzła zarodkowego przebiega różnie u myszy i kopytnych. U myszy rozwój węzła zarodkowego i implantacja przebiega szybko, natomiast trofoektoderma kopytnych rozwija się szybko, lecz węzeł zarodkowy tworzy w tym czasie mitotycznie nieaktywny dysk zarodkowy (16). Piedrahita (19) sugeruje, że różnice między myszą a kopytnymi mogą polegać nie tylko na mechanizmie implantacji, ale także na odmiennych wymaganiach co do składu medium hodowlanego. Badania nad wyprowadzeniem pierwotnych komórek zarodkowych różnych zwierząt gospodarskich wykazały duże zróżnicowanie w obrębie poszczególnych gatunków (4, 7, 10, 11, 16, 19, 20, 25, 27). Autorzy stosują różne warstwy odżywcze oraz media zmodyfikowane, np. komórkami wątroby szczura Buffalo lub z dodatkiem czynników hamujących różnicowanie np. LIF. Badania wykazują zróżnicowanie w zachowaniu się zarodków oraz linii komórek zarodkowych w zależności od stosowanej warstwy odżywczej i gatunku zwierząt gospodarskich.

Wśród uzyskanych linii komórek zarodkowych dominują dwa typy komórek o morfologii:

— nabłonka (płaskie, tworzące nieregularne kształty, mające tendencje do tworzenia warstw),

— mysich ESC (okrągłe, z dużymi jądrami i małą ilością cytoplazmy, z jednym lub więcej wyraźnych jąderek).

Doświadczenia przeprowadzone na zarodkach świni (4, 10, 16, 19, 20, 25) wykazały różne zachowanie się blastocyst na różnych warstwach odżywczych. Piedrahita (19) obserwował przyczepianie się węzła zarodkowego do warstwy świńskich fibroblastów zarodkowych i utrzymywanie się komórek w hodowli bez zmian fenotypu, ale także bez zwiększania się liczby komórek, natomiast na STO blastocysty przyczepiały się i rozpłaszczały dając początek liniom komórek zarówno o morfologii nabłonka jak i ESC (20). Strojek (25) natomiast

nie uzyskał wzrostu kolonii na warstwie mysich fibroblastów pomimo przyczepiania się blastocyst.

Notarianni (16) częściej uzyskiwała wzrost kolonii z izolowanego węzła zarodkowego blastocyst owczych niż z całego zarodka. Nie wszystkie zarodki po przyczepieniu się do warstwy odżywczej dały początek wzrostowi kolonii komórek z węzła zarodkowego. Zachowanie się kolonii komórek pozyskanych z blastocyst świni i owcy różniło się od kolonii myszy m.in. brakiem tendencji do tworzenia wielowarstwowych kolonii. Wykazywały one również słabszy potencjał rozwojowy niż linie myszy. Modliński (13) obserwował przytwierdzanie się blastocyst bydlęcych i owczych do warstwy odżywczej i rozrost głównie komórek trofoektodermy przy minimalnym wzroście węzła zarodkowego. Hassan (7) uzyskał wzrost kolonii z węzła zarodkowego blastocyst bydlęcych o morfologii mysich ESC, jednak po kilku pasażach dochodziło do degeneracji warstwy odżywczej. Weima (27) utrzymywał wytworzoną linię z węzła zarodkowego blastocysty bydlęcej powyżej roku bez zmiany fenotypu kolonii.

W związku z tym, że celem przedstawionych badań jest uzyskanie stałych linii pierwotnych komórek zarodkowych zwierząt gospodarskich, zatem dopiero moment potwierdzenia pluripotentnych właściwości tych komórek (zdolność do różnicowania się we wszystkie tkanki zarodkowe wraz z linią płciową) stanie się punktem przełomowym w dalszych badaniach nad klonowaniem i transgenezą. Do tej pory brak doniesień na temat uzyskania zwierząt gospodarskich pochodzących z pierwotnych komórek zarodkowych.

6. Możliwości wykorzystania pierwotnych komórek zarodkowych w biotechnologii zwierząt

Uzyskane w wyniku hodowli *in vitro* linie ESC mogą być wykorzystane w badaniach nad klonowaniem i produkcją zwierząt transgenicznych. Klonowanie z wykorzystaniem ESC przeprowadzane jak dotąd wyłącznie u myszy (13, 15, 17, 18) może być wykonywane dwiema metodami:

1) iniekcja komórek ESC do jamy blastocysty.

Komórki ES przed iniekcją poddane są trypsynizacji i rozdzieleniu na pojedyncze komórki. Do jamy blastocysty wprowadza się 15 – 20 komórek. W dalszym ciągu istnieje pytanie, jaka liczba ESC powinna być wprowadzona w celu uzyskania optymalnych wyników;

2) agregacja komórek ESC z blastomerami zarodków.

W doświadczeniach nad analizą zdolności ESC do kolonizowania innych typów komórek, Nagy (15) i Peli (25) wykorzystywali 4-blastomerowe zarodki tetraploidalne. Zarodki takie ulegają wprawdzie implantacji jednak rzadko tworzą struktury zarodkowe. Po agregacji z pierwotnymi komórkami zarodkowymi lub z komórkami węzła zarodkowego blastocysty komórki tetraploidalne w trakcie rozwoju zarodka są stopniowo eliminowane, pozostając jedynie w strukturach pozazarodkowych. Analiza chimer uzyskanych po agregacji ESC z zarodkami tetraploidalnymi wykazała, że struktury zarodkowe pochodzą przeważnie z ESC, natomiast pozazarodkowe — z komórek tetraploidalnych.

Badania te wskazują na słabe zdolności ESC do kolonizowania komórek struktur pozazarodkowych (szczególnie komórek trofoektodermy). Stwierdzono również, że wraz ze zwiększeniem liczby użytych ESC wzrastał wprawdzie udział tych komórek w tworzeniu chimer jednak zmniejszał się udział zarodków o prawidłowym rozwoju. Peli (25) stwierdził, że po wprowadzeniu 3, a nawet 1 komórki ESC do zarodka, biorą one wprawdzie udział w tworzeniu chimer jednak w znacznie mniejszym stopniu niż po wprowadzeniu kilkunastu komórek. Stąd sugestia, że liczba komórek ESC użytych do agregacji z zarodkiem odgrywa rolę w przejawianiu się ich zadolności do kolonizowania komórek zarodkowych.

Modliński i wsp. (13) zastępował komórki węzła zarodkowego blastocysty kilkunastoma komórkami ESC. Analiza uzyskanych zarodków wykazała, że w 15% przypadków wprowadzone ESC wytworzyły zarówno zarodek jak i błony płodowe. Większość zarodków obumierała jednak między 8 - 13 dniem ciąży. Noworodki uzyskane w omawianych eksperymentach — podobnie jak w pracy Nagy (15) — początkowo wykazywały normalny fenotyp i wagę jednak były bardzo słabe i miały problemy ze ssaniem. Najdłużej udało się utrzymać przy życiu noworodka przez 10 dni (13), większość padała do 48 godzin po urodzeniu. Na podkreślenie zasługuje fakt, że linie ESC wykorzystywane w omawianych doświadczeniach posiadały w większości prawidłowy kariotyp i liczbę chromosomów. Pease (17) zauważył, że męskie linie (XY) pierwotnych komórek zarodkowych są bardziej stabilne w hodowli niż żeńskie (XX).

Celem transferu genów jest zintegrowanie przenoszonego genu z genomem biorcy. Zabieg ten wykonywany jest we wczesnym okresie rozwoju zarodkowego. Transferu genów można dokonywać poprzez mikroiniekcję DNA do przedjądrza zygoty, wykorzystaniu wektorów retrowirusowych, liposomów lub wprowadzenie DNA przenoszonego genu do medium hodowlanego, w którym umieszczono komórki lub blastomery zarodków. Mikroiniekcja DNA do przedjądrzy zygot jest do tej pory praktycznie jedyną metodą transferu genów u zwierząt gospodarskich. Wykorzystanie genetycznie zrekombinowanych komórek ES nabiera coraz większego znaczenia. Zaletami takiego modelu produkcji zwierząt transgenicznych są: (a) możliwość kontroli włączenia do genomu wprowadzonych genów lub ich ekspresji już w liniach komórkowych hodowanych *in vitro* oraz (b) wykorzystywanie do badań zarodków w bardziej zaawansowanych stadiach rozwojowych (morula lub blastocysta) możliwych do pozyskania *in vivo* metodami niechirurgicznymi (28).

Literatura

1. Bielańska-Osuchowska Z., (1983), Embriologia, PWRiL, Warszawa.
2. Doetschman T., Williams P., Maeda N., (1988), Developmental Biology, 127, 224 - 227.
3. Evans M.J., Kaufman M.H., (1981), Nature, 292, 154 - 156.
4. Evans M.J., Notarianni E., Laurie S., Moor R.M., (1990), Theriogenology, 33(1), 125 - 128.
5. Evans G.S., Potten C.S., (1991), BioEssays, 13(3), 135 - 137.
6. Gardner R.L., Beddington R.S.P., (1988), J.Cell Sci., Suppl., 10,11-27.
7. Hassan-Hauser C., Schellander K., Korb H., Knaus E., Schleger W., Mayr B., (1990), Reprod. Dom. Anim., 25, 22 - 32.

8. Joyner L.A., (1991), BioEssays, 13(12), 649 - 656.
9. Kruip Th.A.M., Pieterse M.C., van Beneden Th.H., Vos P.L.A.M., Wurth Y.A., Taverne M.A.M. (1991), Veterinary Record, 128, 208 - 210.
10. Lee K.H., Ebert K.M., Papaioannon V.E., (1992), 12th International Congress on Animal Reproduction (ICAR) The Hague, The Netherlands, Proceedings, 706 - 708.
11. Meinecke-Tillmann S., Meinecke B., (1992), ICAR, Proceedings, 718 - 120.
12. Modliński J.A., (1990), Biotechnologia, 1(7), 4 - 13.
13. Modliński J.A., Karasiewicz J., (1992), Przegląd Hodowlany, Zeszyty Naukowe 6, 133 - 144.
14. Moreau J.F., Donaldson D.D., Bennett F., Witek-Giannotti J., Clark S.C., Wong G.G., (1988), Nature, 336, 690 - 692.
15. Nagy A., Gocza E., Merentes Diaz E., Prideaux V.R., Ivanyi E., Markkula M., Rossant J., (1990), Development, 110, 815 - 821.
16. Notarianni E., Galli C., Laurie S., Moor R.M., Evans M.J., (1991), J. Reprod. Fert. Suppl., 43, 255 - 260.
17. Pease S., Braghetta P., Gearing D., Grail D., Williams R.L., (1990), Developmental Biology, 141, 344 - 352.
18. Peli J., Schellander K., (1992), ICAR, Proceedings, 730 - 732.
19. Piedrahita J.A., Anderson G.B., BonDurant R.H., (1990), Theriogenology, 34(5), 865 - 877.
20. Piedrahita J.A., Anderson G.B., BonDurant R.H., (1990), Theriogenology, 34(5), 879 - 900.
21. Potten C.S., Loeffler M., (1990), Develpoment, 110, 1001 - 1020.
22. Robertson E.J., (1987), Teratocarcinomas and embryonic stem cells a practical approach, Oxford, IRL Press.
23. Smith A.G., Hooper M.L., (1987), Developmental Biology, 121, 1 - 9.
24. Smith A.G., Heath J.K., Donaldson D.D., Wong G.G., Moreau J., Stahl M., Rogers D., (1988), Nature, 336, 688 - 690.
25. Strojek R.M., Reed M.A., Hoover J.L., Wagner T.E., (1990), Therigenology, 33(4), 901 - 913.
26. Van der Schans A., van Rens B.T.T.M., van der Westerlaken L.A.J., de Wit A.A.C., (1992), ICAR, Proceedings, 1366 - 1368.
27. Weima S.M., van Achterberg T.A.E., Rebel H.G., Kruip T.A.M., Mummery C.L.M., (1992), ICAR, Proceedings, 766 - 768.
28. Wilmut I., Hooper M.L., Simons J.P., (1991), J.Reprod.Fert., 92, 245 - 279.
29. Traunson A,. (1992), ICAR, Clinical trends and basic research in animal reproduction; Proceedings, 125 - 139.

Characterization and application of embryonic stem cells (ESC) in animal biotechnology

Summary

The micromanipulations of embryos and gametes are important tasks in animal biotechnology. These techniques can be used in animal clonning and transgenesis. For achieving these goals, embryonic stem cells are of principal interest.

In vitro cultures of ESC can be derived from whole embryos or isolated inner cell masses (ICM). The attraction of ESC to animal biotechnological research is their pluripotency. ESC are able to contribute to all tissues, including germ lines. To obtain transgenic animals, ESC can be genetically transformed prior to the introduction to embryos.

Present status of knowledge of ESC and their possible usefulness for genetic improvement of farm animals are discussed.

Key words:
animal cloning, embryonic stem cells, embryoculture, transgenesis

Adres dla korespondencji :
Dorota Lechniak, Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt Akademia Rolnicza, Poznań, ul. Wołyńska 33, 60-637 Poznań.