

Mapowanie genomu nową możliwością badania chorób genetycznych psów*)

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR, ul. Wołyńska 33, 60-637 Poznań

Pies jest gatunkiem wyróżniającym się pod względem genetyczno-hodowlanym wśród innych gatunków zwierząt domowych. Prostym dowodem tej unikalności jest ogromne zróżnicowanie wewnątrzgatunkowe, wyrażające się zadziwiająco liczbą ras i zmiennością między nimi. Jest ona wynikiem stosowanej strategii hodowlanej, polegającej na zachowaniu, uznanych za typowe dla danej rasy, cech pokrojowych i behawioralnych. Osiągnięcie tego celu wymaga niejednokrotnie prowadzenia kjojarzeń w pokrewieństwie, szczególnie w okresie wyodrębniania się rasy. To z kolei prowadzi do wzrostu homozygotyczności (inbredu), a przez to ulega zmniejszeniu zmienność genetyczna w obrębie rasy. Tak prowadzona praca hodowlana może doprowadzić do przypadkowego utrwalenia cech niepożądanych, często letalnych lub subletalnych.

U psów opisanych jest ponad 300 chorób genetycznych, które w większości przypadków są efektem mutacji w pojedynczym locus. Czasami jednak uwarunkowane są one wielogenowo, a niekiedy nie bez znaczenia jest wpływ czynników środowiskowych. Wśród poznanych dotąd chorób genetycznych tylko dla połowy udało się ustalić sposób dziedziczenia. Około 72% spośród nich jest efektem recesywnej mutacji w pojedynczym genie, a 19% jednostek chorobowych warunkowane jest przez mutację dominującą w pojedynczym locus. W przypadku około 9% jednostek chorobowych stwierdzono wielogenowe podłoże (21). Z zestawienia powyższego wynika, że skuteczność selekcji przeciw nosicielom (genotyp heterozygotyczny) zmutowanych genów recesywnych zależy głównie od postępu w identyfikacji mutacji w pojedynczych genach odpowiedzialnych za powstanie choroby genetycznej. W tej sytuacji dla hodowcy bardzo istotną kwestią jest uzyskanie odpowiedzi na pytanie o sposób uwarunkowania dziedzicznego choroby genetycznej. Jeżeli jest to jednostka chorobowa rozwijająca się u osobników posiadających układ homozygotycznie recesywny w pojedynczym locus, to hodowca chciałby wiedzieć czy wartościowy i zdrowy reproduktor nie jest nosicielem niepożądanego allelu recesywnego.

Obserwowany postęp w obszarze genetyki molekularnej stwarza nowe możliwości w zakresie identyfikacji i analizy molekularnej genów. Osiągnięcia te prowadzą do opracowania testów molekularnych badających sekwencję nukleotydów w locus genu odpowiedzialnego za powstanie choroby genetycznej. Przy ich pomocy można wykryć w genotypie osobnika zmutowany allel recesywny, nawet wówczas gdy występuje on w układzie heterozygotycznym. Liczne przykłady takich osiągnięć znane są w odniesieniu do chorób genetycznych występujących u ludzi. Postęp jest jednak także dostrzegalny w przypadku zwierząt gospodarskich (11).

Badania, których celem jest poznanie natury molekularnej chorób genetycznych mieszczą się w ramach ogólniejszego problemu, jakim jest poznanie genomu danego gatunku. Badania z tego zakresu prowadzone są głównie w ramach zintegrowanych i interdyscyplinarnych programów mapowania genomu. Pierwszym etapem takiego programu jest mapowanie markerów genetycznych, które prowadzi do stworzenia tzw. markerowej mapy genomu. Ogólna strategia postępowania uwzględnia zazwyczaj trzy nurty badawcze (31). Zalicza się do nich: wykrywanie i opis markerów genetycznych, identyfikację grup markerów sprzężonych i ustalanie odległości genetycznych pomiędzy nimi (mapowanie genetyczne) oraz wskazanie miejsca położenia locus markera na chromosomie (mapowanie fizyczne). Pierwsze programy międzynarodowe zostały uruchomione na początku lat 90-tych i dotyczyły głównych gatunków zwierząt gospodarskich: świni (program PiGMaP) oraz bydła (program BovMap). W czerwcu 1993 r. uruchomiony został podczas Konferencji w Oslo (Norwegia) program mapowania genomu psa – DogMap (1). Podjęte wówczas ustalenia wskazywały, że podstawowymi celami programu są:

- opracowanie wzorca kariotypu psa,
- identyfikacja i opis możliwie dużej liczby markerów genetycznych, głównie związanych z polimorfizmem DNA (tzw. markery klasy II),
- podjęcie prac nad mapowaniem fizycznym markerów,
- utworzenie rodzin referencyjnych, niezbędnych do wykrywania sprzężeń pomiędzy markerami oraz ustalania odległości genetycznych pomiędzy nimi.

*) Praca finansowana przez KBN w ramach projektu badawczego Nr 5 S304 012 06

Zakłada się, że stopniowe rozbudowywanie mapy genomu psa, w przedstawionym powyżej zakresie, pozwoli na osiągnięcie znaczącego postępu w identyfikacji markerów genetycznych sprzężonych z genami odpowiedzialnymi za występowanie znanych chorób genetycznych. Wykrycie takich markerów będzie istotnym krokiem w kierunku wskazania tzw. genu-kandydata, w którym mutacja doprowadziła do powstania allelu wywołującego chorobę genetyczną.

Budowa fizycznej mapy genomu jest możliwa jedynie wówczas, jeżeli ustalony jest wzorzec kariotypu dla badanego gatunku. Pies należy do gatunków, których zestaw chromosomowy jest bardzo trudnym obiektem badawczym. Wynika to z tego, że posiada on bardzo wysoką diploidalną liczbę chromosomów ($2n = 78$), a co więcej chromosomy są morfologicznie bardzo podobne do siebie – wszystkie autosomy są akrocentryczne, chromosom X jest dużym submetacentrykiem, a chromosom Y małym metacentrykiem. Analizę cytogenetyczną komplikuje również fakt, że wzory prążkowe, szczególnie w przypadku małych autosomów, są mało zróżnicowane. W efekcie identyfikacja par chromosomów homologicznych jest znacznie utrudniona, co spowodowało, że do tej pory trwają prace nad opracowaniem międzynarodowego wzorca kariotypu. Podjęte działania w ramach programu DogMap doprowadziły do utworzenia w 1994 r. międzynarodowego Komitetu ds. Standaryzacji Kariotypu Psa (30). Głównym zadaniem Komitetu stało się opracowanie wzorca kariotypu barwionego metodą prążków G (GTG). Zastosowanie klasycznej procedury cytogenetycznej pozwoliło na ustalenie częściowego wzorca, który obejmuje 21 największych par autosomów oraz chromosomy płci (32). Zakłada się, że uzgodnienie wzorca dla pozostałych 17 par autosomów nastąpi przy wykorzystaniu techniki hybrydizacji *in situ* pomiędzy wyznakowaną sondą DNA a chromosomami na preparacie mikroskopowym. Szczególne nadzieje wiąże się z sondami identyfikującymi całe chromosomy (tzw. malowanie chromosomów). Sondy takie zostały ostatnio uzyskane dzięki sortowaniu chromosomów w cytometrze przepływowym (14). Warto zauważyć, że równolegle z pracami nad uzgodnieniem wzorca kariotypu dokonano pierwszych mapowań fizycznych markerów genetycznych (7).

Brak wzorca kariotypu nie zahamował badań, których celem jest diagnostyka chromosomopatii, czyli chorób genetycznych wywołanych mutacjami genomowymi (poliploidie i aneuploidie) lub chromosomowymi (aberracje strukturalne). Ważnym aspektem tych badań jest również poszukiwanie podłoża genetycznego chorób nowotworowych, poprzez wykrywanie somatycznych mutacji genomowych i chromosomowych w komórkach nowotworowych.

Analiza cytogenetyczna psów, prowadzona w kierunku wykrycia nosicielstwa mutacji genomowych

czy chromosomowych, pokazała, że najczęściej diagnozowanymi mutacjami genomowymi były zaburzenia dotyczące liczby i układu chromosomów płci, które były połączone z różnymi postaciami interseksualizmu. Zwierzęta takie miały kariotypy 79,XXY; 78,XX/79XXY lub 78XX/78XY. W grupie strukturalnych aberracji chromosomowych najczęściej opisywano fuzje centryczne, o których wiadomo, że mogą wpływać na obniżenie płodności nosiciela (19). Należy zwrócić uwagę, że ze względu na charakter kariotypu psa aberracje powyższe są łatwe do identyfikacji nawet bez użycia technik barwienia prążkowego. Jest tak dlatego, bo chromosomy płci odróżniają się pod względem morfologii od autosomów, a wystąpienie fuzji centrycznej wiąże się ze zmniejszeniem liczby chromosomów o jeden, przy jednoczesnym pojawieniu się dodatkowego chromosomu dwuramiennego.

Choroby nowotworowe stanowią poważny problem w hodowli psów. Z badań prowadzonych u ludzi wiadomo, że podłoże genetyczne odgrywa istotną rolę w ich powstawaniu i rozwoju (5, 27). Jednym z ważnych aspektów procesów nowotworowych jest powstawanie charakterystycznych zmian w układzie chromosomowym komórek nowotworowych. Zainteresowanie diagnostyką cytogenetyczną nowotworów u psów spowodowane jest także tym, że pies traktowany jest jako ważny gatunek modelowy (porównawczy) dla badań onkologicznych prowadzonych u człowieka. U psów rozwój chorób nowotworowych obserwuje się przede wszystkim u zwierząt w wieku powyżej 5 lat. Pierwsze miejsce pod względem częstości występowania zajmują nowotwory skóry i tkanki podskórnej. Nowotwory złośliwe w tej grupie stanowią około 65% przypadków. Do najczęściej występujących u suk należą nowotwory gruczołu mlecznego, wśród których 88% to nowotwory złośliwe pochodzenia nabłonkowego i mieszanego (15). Badania cytogenetyczne nowotworów gruczołu mlecznego pokazały, że komórki nowotworowe mają nieprawidłowy kariotyp, przy czym częste są mutacje z udziałem chromosomów pary nr 1 (4, 16).

Identyfikacja genu, a następnie allelu odpowiedzialnego za powstanie choroby genetycznej poprzedzone jest często wykryciem markera (-ów) genetycznego z nim sprzężonego. Termin „marker genetyczny” odnosi się do cech jakościowych, uwarunkowanych genetycznie w sposób prosty (tzn. przez jedną parę alleli) i odznaczających się wysokim stopniem polimorficzności. Ważnym warunkiem umożliwiającym zaliczenie danej cechy do grupy markerów genetycznych jest możliwość łatwej jej identyfikacji za pomocą metod laboratoryjnych. Markery genetyczne są klasyfikowane do dwóch kategorii. Markery klasy I, określane też terminem markery klasyczne, związane są z polimorfizmem genów, który można wykrywać na poziomie jego produktu (np. grupy

krwi, polimorfizm białek krwi i mleka itp.) lub na poziomie sekwencji nukleotydów w DNA (RFLP – polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych). Markery klasy II związane są z polimorfizmem niekodujących sekwencji DNA i dlatego są wykrywane jedynie poprzez badanie DNA (np. polimorfizm sekwencji mini- czy mikrosatelitarnych).

Dziedziczenie grupy krwi opiera się na występowaniu układów grupowych, a każdy z nich kontrolowany jest przez pojedynczy locus. Każdy z układów zawiera charakterystyczną liczbę alleli warunkujących powstanie jednego lub więcej antygenów. U psów znanych jest 11 układów grupowych: A, B, C, D, F, J, K, L, M, N oraz Tr charakteryzujących się niewielkim polimorfizmem (6). Późniejsze badania ujawniły polimorfizm jedynie w układzie A (seria czterech alleli: A^{a1} , A^{a2} , A^{a3} i A^{-}) oraz Tr (seria trzech alleli: Tr^{tr} , Tr^0 i Tr^{-}) (28). Obecny stan wiedzy wskazuje na małą przydatność grup krwi do mapowania chorób genetycznych. Jest to związane z tym, że są one warunkowane przez niewielką liczbę loci o bardzo niskim stopniu polimorfizmu.

Ostatnie lata przyniosły gwałtowny postęp w zakresie identyfikacji markerów klasy II, a szczególnie sekwencji mikrosatelitarnych. Są to sekwencje zbudowane z kilkunastu lub kilkudziesięciu tandemowych powtórzeń układu kilku nukleotydów. Sekwencje mikrosatelitarne zidentyfikowano w genomach wielu gatunków. Wiadomo o nich, że są równomiernie rozproszone w genomach oraz, że wiele z nich wykazuje wysoki stopień polimorficzności. Dlatego są uważane za bardzo przydatne markery genetyczne. Przykładowo, spośród dziesięciu analizowanych, aż dziewięć sekwencji mikrosatelitarnych okazało się polimorficznymi (13). W genomie psa zidentyfikowano już wiele sekwencji mikrosatelitarnych. Dwadzieścia sekwencji mikrosatelitarnych opisały Fredholm i Wintero (1995). Badania prowadzone wśród kilku ras psów wykazały wysoką homologię tych sekwencji pomiędzy rasami, zmienna była natomiast częstość występowania poszczególnych alleli u różnych ras. Sekwencje mikrosatelitarne najczęściej są zbudowane z tandemowych powtórzeń układu dwunukleotydowego $(CA)_n$. U psa wielkość alleli w takich loci waha się od 10 do 25 powtórzeń (20). Markery genetyczne są istotnym narzędziem w kontroli pochodzenia osobników oraz umożliwiają określenie stopnia spokrewnienia ras na podstawie porównania frekwencji występowania poszczególnych alleli pomiędzy rasami (9). Analiza genetyczna psów dostarczyć może hodowcom wielu cennych informacji ułatwiających wybór rasy do hodowli oraz par rodzicielskich do kojarzeń z uwzględnieniem specyficznych cech genetycznych. Badania polimorfizmu DNA może okazać się bardzo ważnym elementem diagnostyki weterynaryjnej. Skonstruowanie mapy genetycznej ukazującej sprzężenia genów odpowiedzialnych za rozwój danej jednostki

chorobowej z polimorficznym markerem genetycznym daje szansę szybkiej identyfikacji choroby lub co ważniejsze, nosicielstwa zmutowanego genu i zapobieżenia dalszemu rozprzestrzenianiu w populacji.

Obecnie znanych jest ponad 300 różnych chorób genetycznych występujących u około 200 ras psów (22). Atakują one niemal wszystkie układy i narządy organizmu (24). Niestety dla wielu z nich do tej pory nie poznano mechanizmów dziedziczenia. Większość chorób, których przyczynę udało się ustalić jest warunkowana przez geny autosomalne, recesywne lub sprzężone z płcią. Wiele z tych chorób wykazuje wysokie powinowactwo do określonej rasy. Wady te pojawiać się mogą zwłaszcza w rasach o małych rozmiarach populacji, gdzie występuje często wysoki poziom spokrewnienia spowodowany celowym stosowaniem kojarzeń krewniaczych w celu uzyskania pożądanych fizycznych i behawioralnych cech zwierząt (23). Wiele spośród defektów genetycznych znanych u psa posiada swoje odpowiedniki u człowieka. W przypadku niektórych jednostek chorobowych wykazano homologię nie tylko pod względem objawów klinicznych, ale także na poziomie genu. Przykładem takiej choroby jest wrodzone zapalenie nerek (NH-hereditary nephritis), które jest spowodowane mutacją genu kodującego łańcuch $\alpha 5$ kolagenu typ IV, zlokalizowanego w chromosomie X. Choroba objawia się ostrą niewydolnością nerek u samców, podczas gdy u samic powoduje tylko lekkie uszkodzenie narządów. Analiza części kodującej genu $\alpha 5(IV)$ wykazała u chorych zwierząt w kodonie 35 pojedynczą substytucję nukleotydu G przez nukleotyd T zmieniając tym samym kodon GGA kodujący glicynę na kodon stop TGA (33). Wadą tą często dotknięte są psy rasy samojed (24).

Chorobą o podobnych uwarunkowaniach genetycznych jest hemofilia, najczęściej spotykana u tego gatunku dziedziczna choroba układu krwionośnego (24). Jej przyczyną jest niedobór osoczowych czynników krzepnięcia krwi (hemofilia typu A-niedobór czynnika VIII, B-IX, C-XI). Podobnie jak u człowieka i innych gatunków ssaków zmienione geny odpowiedzialne za rozwój hemofilii typu A i B u psów zlokalizowane są w chromosomie X. Dlatego też, defektem tym obarczone są najczęściej samce. U samic choroba może rozwinąć się wyłącznie w przypadku dziedziczenia dwóch zmutowanych alleli, co należy do rzadkości. W stanie heterozygotycznym samice mogą też czasem wykazywać łagodną postać choroby. Niedobory innych czynników krwi nie są już tak szeroko rozpowszechnione wśród psów jak hemofilie typu A i B i przeważnie są one cechami autosomalnymi, recesywnymi. Wykazywać też mogą pewną specyficzność rasową np. niedobór X czynnika krzepnięcia krwi spotyka się głównie u amerykańskiego cocker spaniela, a hemofilię typu C objawiającą się niedoborem czynnika XI opisano

głównie u trzech ras: springer spaniel, pirenejski pies górski i kerry blue terier (24).

Przykładem innej choroby charakteryzującej się podobnym podłożem genetycznym, zarówno u psów jak i u człowieka jest dystrofia mięśniowa często opisywana u psów rasy golden retriever. Przyczyną choroby u tej rasy jest zamiana jednego nukleotydu w pobliżu końca 3' intronu 6 w genie kodującym dystrofinę. Mutacja ta powoduje delecję egzonu 7 w procesie dojrzewania mRNA. Badania ludzi chorych na dystrofię mięśniową Duchenne'a wykazują, że podobnie jak u psa także u człowieka mutacje mogą występować również w części niekodującej genu dystrofiny, mimo iż 65% znanych mutacji u człowieka znaleziono w części kodującej tego genu (26).

Uogólniona postępująca dystrofia siatkówki (generalized progressive retinal atrophy, GPRA) jest chorobą genetyczną opisaną u wielu ras psów, występującą w kilku postaciach klinicznych. Większość form GPRA u psów jest wywołana przez mutację recesywną w genie kodującym rodopsynę (10). Jako przyczynę wczesnej odmiany atrofii siatkówki występującej u setera irlandzkiego, znanej jako red-1 (rod-cone dysplasia) uznano mutację genu kodującego cGMP-PDEβ (podjednostka β cyklicznej fosfodiesterazy monofosforanu guanozyny). Choroba ta dziedziczy się recesywnie, a pierwsze objawy choroby pojawiają się we wczesnych okresach życia, początkowo jako kurza ślepotą. Całkowita utrata wzroku następuje zwykle ok. 1-3 roku życia. Objawy choroby wynikają z zahamowania różnicowania fotoreceptorów we wczesnym okresie postnatalnym z późniejszą degeneracją i utratą komórek wzrokowych. Jako gen-kandydat, w którym prawdopodobnie nastąpiła mutacja został zaproponowany gen fosfodiesterazy monofosforanu guanozyny – PDEB. U zwierząt dotkniętych tą chorobą transkrypty PDEB były zmienione pod względem długości w porównaniu z transkryptami pochodzącymi od zwierząt normalnych. Defekt w genie polega na zamianie G→A w kodonie 807, w wyniku czego powstaje kodon stop, co jest przyczyną przedwczesnej terminacji białka PDEB o 49 aminokwasów (2).

Znacznie bardziej skomplikowana jest kwestia chorób uwarunkowanych wielogenowo, niejednokrotnie zależnych także od wpływów pozagenetycznych. Przykładem takiej choroby jest dysplazja stawu biodrowego (hip-dysplasia). Wiadomo, że w rozwoju tej choroby istotną rolę odgrywa nie tylko genotyp, ale także wpływy środowiska. Wskaźnik odziedziczalności tej choroby mieści się w zakresie od 0,25 do 0,4 (25). W przypadku takich chorób można się spodziewać identyfikacji genów o dużym efekcie działania, które obok innych genów wpływających na powstanie choroby, odgrywają kluczową rolę w rozwoju procesu chorobowego.

Wyeliminowanie chorób genetycznych zależy od usunięcia z populacji alleli odpowiedzialnych za ich

rozwój. Dla większości zaburzeń konieczne będzie opracowanie odpowiednich testów umożliwiających identyfikację mutacji (12). W tym przypadku kluczową rolę odgrywa wybór i analiza molekularna genu-kandydata, w którym najprawdopodobniej zaszła mutacja odpowiedzialna za rozwój choroby. Należy jednak zwrócić uwagę, że wykrycie mutacji w genie-kandydacie nie musi oznaczać, iż jest ona odpowiedzialna za zaburzenie. Zmiana w genie może wynikać po prostu z polimorficzności badanej sekwencji. Dopiero wykrycie zmiany w sekwencji aminokwasów, powodującej wady budowy lub funkcji kodowanego przez gen-kandydat białka daje podstawę do przypuszczenia, że mutacja ta jest przyczyną choroby.

Piśmiennictwo

1. Anon.: Animal Genetics Soc. News 24, 399, 1993.
2. Aquirre G. D.: Molecular Genetics Canine Genetic Health Conference, Florham Park, Abstracts, 1994.
3. Bell K.: w: Red Blood Cells of Domestic Mammals wyd. N. S. Agar and P. G. Board, Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam 1983.
4. Bernitzke S., Motzko H., Caselitz J., Kornberg M., Bullerdiek J., Schloot W.: Cytogenet. Cell Genet. 60, 135, 1992.
5. Cavenee W. K., White R. L.: Świat Nauki 5, 46, 1995.
6. Colling D. T., Saison R.: Anim. Blood 11, 1, 1980.
7. Fisher P. E., Holmes N. G., Thomas R., Binns M. M., Nacheva E.: Mamm. Genome, 1995 (w druku).
8. Fredholm M., Wintero A. K.: Mamm. Genome 6, 11, 1995.
9. Fredholm M., Wintero A. K.: Anim. Gen. 1996 (w druku).
10. Gould D. J., Patersen-Jones S. M., Sohal A., Barnett K. C., Sargan D. R.: Anim. Gen. 26, 261, 1995.
11. Grzybowski G., Lubieniecki K., Żurkowski M., Kurył J.: Przegl. Hod. nr 5, 10, 1995.
12. Holmes N. G.: Br. vet. J. 150, 411, 1994.
13. Holmes N. G., Mellersh C. S., Humphreys S. J., Binns M. M., Holliman A., Curtis R., Sampson J.: Anim. Gen. 24, 289, 1993.
14. Langford C. F., Fisher P. E., Binns M. M., Holmes N. G., Carter N. P.: Chromosome Res. 3, 1, 1995.
15. Malicka E., Piusiński W., Sendecka H., Bielecki W., Osińska B., Lenartowicz-Kubrat Z.: Medycyna Wet. 52, 103, 1996.
16. Mayr B., Eschborn U., Loupal G., Schleger W.: Vet. Pathol. 30, 311, 1993.
17. Mayr B., Plasser J., Schleger W., Loupal G., Burtcher H.: J. Small Anim. Pract. 33, 277, 1992.
18. Mayr B., Kofler H., Schleger W., Loupal G., Burtcher H.: Res. Vet. Sci. 50, 298, 1991.
19. Mellink C. N. M., Bosma A. A.: W: Cytogenetic of Domestic Animals. Wyd. Halnan CRE, Wallingford: CAB International, 1989, s. 151.
20. Ostrander E. A., Sprague G. F., Rine J.: Genomics 16, 1, 1993.
21. Patterson D. F.: 2nd International DOGMAP Meeting, Abstracts, Cambridge, 1995.
22. Patterson D. F., Aguirre G. A. i wsp.: Med. Gen. 7, 58, 1987.
23. Patterson D. F., Haskins M. E., Jezyk P. F., Giger U., Meyers-Wallen V. N., Aguirre G., Fyfe J. C., Wolfe J. H.: J. Am. Vet. med. Ass. 193, 1131, 1988.
24. Pidduck H.: Vet. Anim. 27, 293, 1987.
25. Robinson R.: Genetics for Dog Breeders. Pergamon Press, Oxford, 1990.
26. Sharp N. J. H., Kornegay J. N., Van Camp S. D., Herbstreith M. H., Secore S. L., Kettle S., Hung W. Y., Contantinou C. D., Dykstra M. J., Roses A. D., Bartlet R. J.: Genomics 13, 115, 1992.
27. Steffen J. A.: Nauka nr 3, 7, 1995.
28. Symons M., Bell K.: Anim. Genet. 22, 227, 1991.
29. Symons M., Bell K.: Anim. Genet. 23, 509, 1992.
30. Świtoński M., Fisher P. i wsp.: 11th Europ. Colloquium of Cytogenetic of Domestic Animals. Kopenhaga, Dania, 1994, s. 150.
31. Świtoński M.: Przegl. Hod. nr 10, 3, 1995.
32. Świtoński M., Reimann N. i wsp.: Chromosome Res. 4, 1, 1996.
33. Zheng K., Thorner P. S., Marrano P., Baumal R., McInnes R. R.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 3989, 1994.

Adres autora: prof. dr hab. M. Świtoński, ul. Wołyńska 17/2, 60-616 Poznań