

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra obecné zootechniky a etologie



Využití molekulárně genetických metod v chovu psů

Bakalářská práce

Autor práce: Natálie Poláková

Obor studia: Kynologie

Vedoucí práce: Ing. Barbora Hofmanová, Ph.D.

© 2018 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Využití molekulárně genetických metod v chovu psů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20.04.2018

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Barboře Hofmanové, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost a vstřícný přístup, BSc Kristýně Novotné za technickou pomoc a členům Klubu bílého ovčáka za cenné informace ohledně chovatelské praxe. Dále rodině a přátelům za podporu.

Využití molekulárně genetických metod v chovu psů

Souhrn

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout dosavadní poznatky ohledně molekulárně genetických metod využívaných v chovu psů.

Genom představuje veškerou jadernou genetickou informaci, uloženou v lineární dvouřetězcové molekule DNA. Jedná se o kompletní sekvenci DNA zahrnující kódující i nekódující oblasti. U psa byl zmapován v roce 2005 a čítá okolo 19 000 genů.

Mezi nejčastěji využívané molekulárně genetické metody patří izolace nukleových kyselin, hybridizace, klonování DNA, sekvencování a amplifikace nukleových kyselin pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR).

V chovatelské praxi se molekulárně genetické metody využívají v diagnostice dědičných onemocnění, k detekci polymorfismů ovlivňujících exteriérové znaky (zbarvení srsti a kvalitu osrstění), ověřování původu, vytvoření DNA profilu a detekci patogenů v organismu. Zbarvení srsti je determinováno šesti základními lokusy – Extension (E), Black (K), Agouti (A), Brown (B), Dilution (D) a Merle (M). Kvalita osrstění je podmíněna geny FGF5 (fibroblast growth factor 5), RSPO2 (R-spondin-2) a KRT71 (Keratin 71). Za bezsrstost zodpovídá gen FOXI3 a za nadměrnou línavost MC5R (Melanocortin receptor 5). Ověřování původu je založeno na detekci konkrétních STR (short tandem repeats) markerů v genomu, sestavení DNA profilu a následném porovnávání profilu rodičů i potomků. Zdaleka nejrozšířenější využití nachází molekulárně genetické metody v diagnostice dědičných onemocnění. Výsledky těchto vyšetření rozhodují o budoucím využití jedince v chovu. Mezi nejrozšířenější hereditární onemocnění patří MDR defekt, degenerativní myelopatie, maligní hypertermie, von Willebrandova choroba, anomálie oka kolíí, různé formy progresivní retinální atrofie a primární luxace čočky.

Pes domácí se celosvětově těší stále větší oblibě nejen mezi chovateli, ale také v oblasti vědy a výzkumu. Postupem času bude mít genetické testování v chovu psů s největší pravděpodobností ještě větší význam, než jaký mělo doposud.

Klíčová slova: pes, genom, zbarvení srsti, genetická onemocnění, ověřování původu

The use of molecular genetics methods in dog breeding

Summary

The aim of this bachelor thesis was to summarize the existing observations concerning the use of molecular genetics methods in dog breeding.

The genome represents all the nuclear genetic information stored in the linear double-stranded DNA molecule. This is a complete DNA sequence including both coding and non-coding regions. Genome of the dog was mapped in 2005 and contains about 19 000 genes.

The most commonly used molecular genetics methods are nucleic acid isolation, hybridization, DNA cloning, nucleic acid sequencing and amplification by polymerase chain reaction (PCR).

In breeding practice, molecular genetics methods are used in the diagnosis of hereditary diseases, for the detection of polymorphisms affecting the exterior traits (coat colour and coat variation), parentage testing, DNA profiling and pathogen detection in the organism. Coat colour is determined by six basic loci – Extension (E), Black (K), Agouti (A), Brown (B), Dilution (D) and Merle (M). The variation of the coat is conditioned by FGF5 (fibroblast growth factor 5), RSPO2 (R-spondin-2) and KRT71 (Keratin 71). FOXI3 is responsible for hairlessness and MC5R (Melanocortin receptor 5) for excessive shedding. Parentage testing is based on the detection of specific STR (short tandem repeats) markers in the genome, DNA profile compilation and subsequent comparison of the profiles of both parents and the offspring. By far the most widespread use of molecular genetics methods concerns diagnosis of hereditary diseases. Results of these tests determine the future use of the individual in the breeding programme. The most common hereditary diseases are MDR defect, degenerative myelopathy, malignant hyperthermia, von Willebrand disease, collie eye anomaly, various forms of progressive retinal atrophy and primary lens luxation.

Domestic dogs are increasingly popular world-wide not only amongst breeders but also amongst people in the scientific field. Over time, genetic testing in dog breeding programmes will most likely become of even greater importance than ever.

Keywords: dog, genome, coat colour, genetic diseases, canine identification

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Cíl práce	2
3 Literární rešerše	3
3.1 Genom psa domácího	3
3.1.1 Struktura DNA	3
3.1.2 Mapování genomu	4
3.2 Molekulárně genetické metody	5
3.2.1 Izolace nukleových kyselin.....	5
3.2.2 Hybridizace nukleových kyselin.....	5
3.2.3 Klonování DNA.....	6
3.2.4 Sekvencování	6
3.2.5 Amplifikace nukleových kyselin – PCR.....	7
3.3 Praktické využití molekulárně genetických metod	8
3.3.1 Testování genotypu pro zbarvení srsti	8
3.3.1.1 E Lokus.....	9
3.3.1.2 K Lokus	11
3.3.1.3 A Lokus	12
3.3.1.4 B Lokus	14
3.3.1.5 D Lokus	15
3.3.1.6 M Lokus.....	16
3.3.2 Testování genotypu pro kvalitu (typ) osrstění	17
3.3.2.1 Bezsrstost.....	18
3.3.2.2 Délka srsti	19
3.3.2.3 Kudrnatá srst.....	20
3.3.2.4 Znaky obočí a vousů (furnishings)	20
3.3.2.5 Nestandardní osrstění	20
3.3.2.6 Línavost	21
3.3.3 Ověřování původu.....	22
3.3.3.1 STR.....	22
3.3.3.2 Výběr mikrosatelitních markerů.....	22
3.3.3.3 DNA Profil	23
3.3.3.4 Ověření rodičovství	24

3.3.4	Diagnostika dědičných onemocnění	24
3.3.4.1	Poruchy dýchací soustavy	24
3.3.4.2	Poruchy endokrinní soustavy	25
3.3.4.3	Poruchy imunitního systému	25
3.3.4.4	Poruchy metabolismu	26
3.3.4.5	Poruchy nervové soustavy	27
3.3.4.6	Poruchy oběhové soustavy	34
3.3.4.7	Poruchy pohybové a opěrné soustavy	35
3.3.4.8	Poruchy smyslové soustavy – zraku	39
3.3.4.9	Poruchy vylučovací soustavy a kůže	48
3.3.5	Detekce patogenů	49
4	Závěr	51
5	Seznam použité literatury	52

1 Úvod

Domestikace psa domácího (*Canis lupus familiaris*) započala před více než 15 000 lety. Prvním krokem v tomto procesu byla integrace druhu do sociální struktury lidí. Proto, že původní záměr samotné domestikace nového zvířecího druhu je zisk užitku pro člověka, byla selekce zaměřena na povahu – krotkost jedince a přichylnost k člověku. Už tato integrace vedla k prvním morfologickým změnám, zapříčiněným vlivem prostředí, umělé selekce a z části také přírodní selekce. V průběhu let byla pozornost lidí čím dál více upírána na exteriér a užitek, čemuž byl také záhy přizpůsoben směr, jakým se ubírala selekce. Postupně touto cestou vznikaly nové subpopulace vzešlé z několika málo společných předků.

V současnosti existuje přes 400 FCI uznaných plemen psů, která jsou vysoce variabilní. Příslušníci jednotlivých plemen se od ostatních vyznačují nejen typickým exteriérem a povahou, ale také přidruženými mutacemi, které se v důsledku malé genetické základny předků stále udržují v populaci.

Pes domácí pro lidi nyní představuje především společníka pro život, proto chovatelé postupně upouštějí od selekce na užitek a zaměřují se více na exteriér a fitness. Zatímco v minulém století byla k těmto účelům využívána analýza rodokmenů, dnes jsou již neodmyslitelnou součástí chovu psů molekulárně genetické metody. Jedná se o ideální prostředek umožňující prostřednictvím analýzy genomu psa nejen detekovat konkrétní polymorfismus vedoucí k projevu znaku či rozvoji dědičného onemocnění, ale také identifikovat přenašeče bez fenotypových projevů nebo ověřit původ jedince. Získané informace jsou následně aplikovány v chovu při výběru rodičovských párů. V případě dědičných onemocnění mohou být výsledky vyšetření důvodem pro odmítnutí vpuštění do chovu. Další využití nachází molekulárně genetické metody také v diagnostice, a to v podobě detekce patogenů v organismu.

2 Cíl práce

Cílem této práce je shrnout údaje z dosavadních poznatků ohledně molekulárně genetických metod využívaných v chovu psů.

3 Literární rešerše

3.1 Genom psa domácího

Pes domácí má okolo 19 000 genů (Ostrander et Wayne, 2005). Veškerá jaderná genetická informace eukaryotních organismů je uložena v lineární dvouřetězcové molekule DNA a označuje se jako genom. Jedná se o kompletní sekvenci DNA zahrnující kódující oblasti, exony, i nekódující oblasti, introny.

3.1.1 Struktura DNA

Molekula deoxyribonukleové kyseliny má tvar dvoušroubovice. Obě vlákna jsou k sobě komplementární a skládají se z nukleotidů. Každý nukleotid obsahuje sacharidovou složku (2-deoxyribosa v DNA, ribosa v RNA), zbytek kyseliny fosforečné a bázi. Báze na základě pyrimidinu jsou cytosin (C), thymin (T) a uracil (U; báze jen RNA). Purin tvoří základ bází adenin (A) a guanin (G). Obě vlákna jsou spojena vodíkovými můstky, vazba vzniká ale jen mezi těmi bázemi, které jsou k sobě komplementární. A a T jsou spojeny dvojnými vodíkovými můstky, C a G trojnými vodíkovými můstky. V molekule ribonukleové kyseliny je T nahrazen U. Nukleotidy se kromě přenosu genetické informace podílí také na stavbě kofaktorů. Nejčastěji se jedná o adenin, který je součástí flavinadenindinukleotidu (FAD) a nikotinamidadenindinukleotidu (NAD⁺). Během M-fáze buněčného cyklu molekula DNA kondenzuje a vytváří chromozomy. V interfázi je DNA zcela dekonzenzovaná, čímž je umožněn průběh replikace a transkripce. Proteosyntéza je následně dokončena transportem transkriptu RNA mimo jádro na ribozomy, kde probíhá translace. Výsledným produktem proteosyntézy je polypeptidový řetězec.

Dalším místem, kde je uložena genetická informace, jsou mitochondrie. Tento druh DNA je označován jako mtDNA, patří mezi DNA mimojadernou. Molekula má kruhový tvar a na rozdíl od jaderné nekondenzuje do chromozomů.

Pes domácí má 38 párů autozomů a 1 pár gonozomů. Chromozomy tohoto druhu se označují jako CFA. Počet chromozomů není mezi druhy spadajícími pod čeled' psovitých identický (Yang et al., 1999).

3.1.2 Mapování genomu

Prvním psem, jehož genom byl zmapován téměř v celém rozsahu, byl pudl Shadow. Majitelem byl Craig Venter, genetik a biochemik, který osekvenoval svůj vlastní genom a byl tak jedním z prvních lidí podílejících se na tomto důležitém pokroku. Oba projekty financoval sám. Kirkness et al. (2003) se tehdy podařilo přečíst 2 miliony fragmentů tvořící 80 % psiho genomu. Většina chybějících částí byly nekódující oblasti. Uvádí, že 650 milionů párů bází se shoduje s genomem lidským. Mezi tyto shodující se sekvence patří 18 473 z 24 567 popsanych lidských genů, což je větší shoda než v případě 18 311 genů myši domácí. Z tohoto důvodu považují psa domácího za vhodný genetický model pro další studium lidského genomu a onemocnění, která se vyskytují u obou druhů.

O několik měsíců později dokončili Lindblad-Toh et al. (2005) detailní sekvenaci genomu feny boxera, Tashi, a částečnou sekvenaci deseti různých psích plemen. Tentokrát se podařilo zmapovat více než 99 % genomu boxera a 6 % genomu ostatních plemen. Oproti předchozí studii, kdy byla celá sekvence přečtena 1,5x, byl genom feny boxera Tashi přečten 7,5x. Nejprve byla veškerá DNA rozdělena na fragmenty, potom proběhla sekvenace a nakonec byly výsledky sjednoceny prostřednictvím softwaru.

Porovnávání jednotlivých genových map napomáhá k identifikaci genů zodpovědných za konkrétní onemocnění a fenotypové znaky v rámci asociačních studií (GWAS), porozumění změnám genů a genomu v průběhu evoluce, stejně tak vlivu efektu hrdla lahve na genetickou diverzitu během domestikace a vzniku plemen (Lindblad-Toh et al., 2005).

V současnosti se sekvenování celého genomu využívá experimentálně k hledání příčin dědičných onemocnění (Hayward et al., 2016; Ivansson et al., 2016; Sayyab et al., 2016), častější je však využití genové mapy pro určení kandidátních genů v asociační studii (GWAS). Vzhledem k nákladnosti analýzy se prozatím nejedná o rutinní postup nabízený laboratořemi chovatelům psů.

3.2 Molekulárně genetické metody

Molekulárně genetické metody se zabývají analýzou nukleových kyselin a jejich manipulací. Především se jedná o DNA. V chovatelské praxi jsou využívány v diagnostice, k detekci polymorfismů ovlivňujících exteriérové znaky, ověření původu, vytvoření DNA profilu a detekci patogenů.

3.2.1 Izolace nukleových kyselin

Prvním krokem je izolace nukleových kyselin (DNA nebo RNA) z lyzovaných buněk, purifikace a změření koncentrace ve vzorku. Existují různé metody izolace a purifikace využívané v závislosti na tom, pro jaký test je genetický materiál určen.

Materiál se odebírá ve formě EDTA krve nebo bukalního stěru. Laboratoře pro některá konkrétní vyšetření upřednostňují krev odebranou veterinářem, nabízejí ale také odběrové soupravy pro provedení bukalního stěru sliznice chovatelem v domácím prostředí.

Nejprve je třeba uvolnit vnitřní obsah buněk narušením buněčné stěny – lýzou buněk. Toho je většinou dosaženo použitím lysozymu a detergentů pro solubilizaci cytoplazmatické membrány, nejčastěji EDTA a laurylsíranu sodného. Dohromady tvoří lyzační směs, která je udržována v pufrčním médiu. Detergenty působí také jako inhibitory nukleas tím, že naváží ionty vápníku, které mají funkci kofaktoru tohoto enzymu. Navázáním vápníkových iontů je zabráněno degradaci nukleových kyselin. Po rozpuštění membrány vzniká směs DNA, RNA, proteinů, sacharidů, lipidů, nízkomolekulárních látek a uhlovodíků.

Následuje purifikace enzymy – nukleasami a především proteasami, působícími například i na histony, které jsou součástí procesu kondenzace DNA. Dalších postupů a metod purifikace a extrakce nukleových kyselin ze směsi je několik a odlišují se od sebe nejen složením pufrů, ale také samotným způsobem provedení a použitým vybavením. K separaci se nejčastěji používá centrifugace nebo elektroforéza (Šmarda et al., 2005).

3.2.2 Hybridizace nukleových kyselin

Během hybridizace jsou na sebe navázány jednořetězcové molekuly s komplementárními bázemi z různých molekul nukleových kyselin a dávají vzniknout dvouřetězcům. První vlákno je vyšetřovaná DNA, druhé vlákno je značená sonda, vyhledávající konkrétní úsek nukleotidů. Tento postup je hojně využíván při vyhledávání specifických nukleotidových sekvencí.

Denaturací se přeruší vodíkové vazby mezi bázemi v původních dvou řetězcích DNA. Bod tání, při kterém dojde k přerušení vazeb, se pohybuje mezi 85–95 °C v závislosti na složení bází v konkrétním vlákně. Je to z důvodu, že mezi C a G jsou vazby tři a mezi A a T vazby dvě. Čím více vodíkových vazeb je v molekule přítomno, tím vyšší teplotu je potřeba vyvinout. Proto je možné podle teploty přibližně odhadnout složení vlákna. Denaturace je děj reverzibilní. Jejím opakem je renaturace, během které za snížené teploty dochází k propojení jednořetězcového vlákna se sondou (Šmarda et al., 2005).

Využívá se spousta možných provedení hybridizace, například v roztoku, v gelu, na filtrech, čipech a in situ. Všechny postupy vyžadují přítomnost sondy.

3.2.3 Klonování DNA

Za účelem zmnožení genetické informace se cizorodá DNA vkládá do klonovacího vektoru (přenašeče), který se s novou molekulou DNA spojí pomocí restriční endonukleázy. Následně se klonovací vektor autonomně replikuje a s ním je replikována i požadovaná část vložené DNA. Takto vzniklý produkt se nazývá rekombinantní molekula DNA (Šmarda et al., 2005).

Často využívanou metodou vzniku rekombinantní DNA je vložení fragmentu původní DNA do bakteriálního plazmidu nebo viru.

3.2.4 Sekvencování

Metody využívané při detekci polymorfismů se dělí na přímé (sekvencování) a nepřímé (restriční endonukleázová analýza, detekce SNP, RFLP a jiné metody zabývající se restričními fragmenty, PCR).

Sekvencování (sekvenování) je způsob určení pořadí nukleotidů v řetězci DNA. Tato metoda má zásadní vliv na identifikaci jednonukleotidových polymorfismů a mutací v genomu. Výchozím materiálem pro sekvenování jsou restriční fragmenty DNA nebo produkty PCR. Všechny fragmenty DNA mají označený konec a odlišují se délkou. Soubor fragmentů se během elektroforézy seřadí od nejkratších řetězců po nejdelší a proto, že se v délce od sebe liší jen o jednu bázi, může potom počítačový software přečíst celou sekvenci. Nejčastěji používané metody jsou Sangerova (enzymová) a Maxam-Gilbertova (chemická) (Šmarda et al., 2005).

3.2.5 Amplifikace nukleových kyselin – PCR

Polymerázová řetězová reakce umožňuje zmnožení požadované genetické informace bez klonování ve vektoru. Princip PCR se zakládá na opakující se replikaci dvouřetězcové DNA ve směru 5'→3' s pomocí DNA-polymerasy. Amplifikace probíhá v zařízení termocykler a má tři fáze: denaturace, annealing a elongace.

Denaturace dvouřetězcových molekul vyžaduje teplotu 94–96 °C. Takto vysoká teplota přerušuje vodíkové můstky mezi bázemi a vlákna DNA se od sebe oddělí.

Během annealingu se teplota sníží na 30–65 °C, což umožní napojení primerů na obě vlákna. Primery jsou specifické a jsou připravovány komplementárně ke konkrétním sekvencím DNA. Bývají navrhovány tak, aby měly délku 18–25 bází a T_{\max} okolo 50 °C.

Poslední fází je elongace, syntéza nových dvouřetězců DNA prostřednictvím DNA-polymerasy při 65–75 °C. Enzymy obecně jsou velmi citlivé na teplotu. V PCR se však používají DNA-polymerasy izolované z termofilních organismů, proto jsou enzymy vysoce odolné i během denaturace a mohou se tak nadále podílet na replikačních cyklech bez dalšího zásahu.

Počet prováděných cyklů se pohybuje mezi 25 až 35 v závislosti na množství původního materiálu. Standardně bývají amplifikovány fragmenty do velikosti 3–4 kb. Výsledné úseky se nazývají amplikony. Velikost amplikonů se stanovuje elektroforézou. Kvantitativní detekce produktu PCR probíhá za použití interkalačního barviva vázajícího se na DNA, fluorescenčních primerů nebo fluorescenčních sond. Dnes je na trhu dostupné velké množství komerčně vyráběných technologií spadajících do těchto kategorií (Šmarda et al., 2005).

3.3 Praktické využití molekulárně genetických metod

3.3.1 Testování genotypu pro zbarvení srsti

Srst je tvořena chlupy sdruženými do dermatomů. V průběhu prenatalního vývoje se kůže a její deriváty diferencují z ektodermu. Samotný chlup se anatomicky dělí na tři části – dřeň, kůru a chlupovou kutikulu. Dřeň vede středem chlupu, obklopují ji buňky kůry, na které přiléhá tenká chlupová kutikula (Marvan a kol., 2003).

Pigment, melanin, se nachází v dřeni a buňkách kůry. V tenkých chlupech podsady je dřeň redukována nebo chybí úplně.

Tvorba pigmentu je ovlivněna mnohými vnějšími a vnitřními faktory. Vnějšími faktory jsou věk, podnebí, klimatické změny, způsob ustájení, zdravotní stav a aktuální kondice, zatímco vnitřní faktory zahrnují produkty keratinocytů, fibroblastů, buněk nervové soustavy a endokrinního systému (Videira et al., 2013).

Melaninové pigmenty vznikají v procesu melanogeneze. Melanocyty obsahují specifické organely melanosomy, struktury podobné lysozomům, v nichž je melanin syntetizován a uskladněn do té doby, než dojde k transportu do okolních keratinocytů (Marks et Seabra, 2001).

Melanogeneze je regulována multienzymovým komplexem skládajícím se z melanocytárně-specifických genových produktů. Mezi savčí melanogenní enzymy patří tyrosinasa, TYRP1 nebo gp75 a TYRP2. Tyto enzymové komplexy katalyzují syntetickou dráhu melaninu (D’Mello et al., 2016).

Melanin se vyskytuje ve dvou formách, kterými jsou eumelanin, černý až hnědý pigment, a feomelanin, žlutý až červený pigment. Obě formy mají stejný základ. Vznikají přeměnou tyrosinu na DOPA a následně dopachinon za působení enzymu tyrosinasy. V případě eumelaninu dochází k cyklizaci dopachinonu a vzniká leukodopachrom. Probíhá dekarboxylace na 5,6-dihydroxyindol a oxidace na eumelanin. Pokud jsou v melanocyту přítomna rezidua cysteinu nebo glutathionu s volnou thiolovou skupinou, probíhá velmi rychlá reakce s dopachinonem a vzniká nejprve cysteinyl-DOPA a následně feomelanin (Prota, 1980).

Vzhledem k vzájemné nezávislosti melanosomů produkujících eumelanin a melanosomů produkujících feomelanin, mohou být obě formy pigmentu exprimovány současně i postupně. Expresi dále ovlivňují mutace v genech a promotorech (Lu et al., 1994).

Doposud bylo zmapováno 6 lokusů ovlivňujících zbarvení srsti (A, B, D, E, K, M). Tyto lokusy lze bezpečně a s jistotou identifikovat pomocí laboratorních metod. Předpokládá se

však, že na výsledné zbarvení a jeho intenzitu má vliv mnoho dalších genů, polygenů a jejich interakce.

Tab. 1: Přehled lokusů a genů pro determinaci zbarvení srsti psů (Schmutz et Berryere, 2007)

Lokus	Gen	Alela	Fenotypový projev
E (extension)	MC1R (CFA5)	E ^M	melanistická maska
		E ^G	grizzle, domino
		E	produkce eumelaninu
		e	produkce feomelaninu
K (black)	CBD103 (CFA16)	K ^B	černá, hnědá, modrá
		k ^{br}	žihání
		k ^y	exprese A lokusu
A (agouti)	ASIP (CFA24)	A ^Y	plavá, sobolí
		a ^w	vlkošedá
		a ^t	pálení
		a	recesivní černá
B (brown)	TYRP (CFA11)	B	černý eumelanin
		b	hnědý eumelanin
D (dilution)	MLPH (CFA25)	D	beze změny
		d	naředěná pigmentace
M (merle)	SILV (CFA10)	M	merle zbarvení
		m	beze změny

3.3.1.1 E Lokus

Lokus nese název Extension, v překladu z angličtiny rozšíření či rozsah. Zkráceně se označuje jen písmenem E. Byl zmapován na 5. chromozomu psa a v jeho místě se nachází gen Melanocortin receptor 1 (MC1R), který kóduje transmembránový melanokortinový receptor spřažený s G-proteinem.

MC1R je součástí skupiny pěti genů MC1R – MC5R vyskytujících se u savců. Společným znakem těchto genů je to, že se skládají jen z jednoho exonu a jsou lokalizovány na

autozomech, avšak jejich funkce, počet kódovaných aminokyselin a místo exprese jsou odlišné. MC1R je exprimován primárně v melanocytech a má zásadní vliv na proces melanogeneze (Switonski et al., 2013).

Aktivní a funkční MC1R receptor v nezměněném stavu bez ligand nacházející se v membráně melanocyty realizuje syntézu eumelaninu (Candille et al., 2007).

U psů byly v rámci tohoto genu popsány čtyři alely $E^M > E^G > E > e$.

E^M – nejdominantnější alela ze série. Jejím projevem je přítomnost černé melanistické masky na jedincích s červeným, žlutým, plavým nebo brindle fenotypem. Toto zbarvení je zapříčiněno substitucí methioninu za valin na 264. aminokyselině (p.Met264Val). Původcem tohoto jevu je mutace g.790A>G. Nositeli V264 mohou být také psi s černou nebo hnědou srstí, avšak v tomto případě je obtížné určit, zda je maska přítomna či nikoliv (Schmutz et al., 2003).

Projev je stejný u homozygotů i heterozygotů, platí tedy úplná dominance ve vztahu k ostatním alelám.

E^G – alela recesivní oproti alele E^M a dominantní nad E a e . Alely K^B a A^Y jsou nad E^G epistatické. V důsledku působení alely vzniká zbarvení grizzle u plemene saluki a zbarvení domino u afghánských chrtů. Jde o alelu plemenně specifickou a doposud nebyla zmapována u jiných plemen, než jsou tato dvě. Zbarvení grizzle i domino se projevují velmi světlou srstí v obličejové části a tmavší srstí v části dorzální, kde je produkován kromě feomelaninu i eumelanin. Fenotyp vzniká mutací g.233G>T a substitucí p.Gly78Val (Dreger et Schmutz, 2010).

E – umožňuje expresi lokusu A a distribuci granul eumelaninu v srsti, pokud je jedinec genotypu E/E nebo E/e (Dostál, 2007).

Melanocyty psa s touto alelou jsou schopny produkce eumelaninu i feomelaninu. Alela E je recesivní vůči alelám E^M a E^G a dominantní nad e .

e – recesivní alela vůči ostatním alelám lokusu E. Aby se projevil fenotyp typický pro tuto alelu, musí být jedinec recesivně homozygotní. Na ostatní geny mající vliv na zbarvení srsti působí epistaticky.

Tato forma genu vzniká nonsense mutací g.916C>T. V důsledku této změny se v průběhu translace na C-terminus vznikajícího polypeptidového řetězce nenaváže arginin, ale předčasný stop kodon v pozici 306 a peptidový řetězec je zkrácen o 10 aminokyselinových

zbytků. Zkrácení proteinu vede ke ztrátě funkce MC1R receptoru a výhradní produkci feomelaninu. Největší vliv má pravděpodobně ztráta cysteinového zbytku v pozici 315 (Everts et al., 2000).

Dle Newtona et al. (2000) měli všichni jimi zkoumaní jedinci plemen labradorský retriever, zlatý retriever a irský setr s projevem žlutého nebo červeného fenotypu genotyp e/e K^B/K^B .

Výsledky výzkumu Schmutz a Melekhovets (2012) prokázaly, že se u několika plemen projevuje genotyp ee bílým fenotypem, nikoliv žlutým či červeným. Mezi tato plemena patří německý ovčák, čau čau, puli a malý knírač. Autoři předpokládají v případě těchto plemen interakci s dalším genem, který způsobuje naředění feomelaninu.

3.3.1.2 K Lokus

Lokus K (black) byl objeven při studiu dominantní černé. Gen Beta-defensin 103 (CBD103) se nachází na 16. chromozomu psa. Společně s MC1R a ASIP geny se podílí na syntéze a distribuci feomelaninu a eumelaninu.

Proteinový produkt CBD103 genu má obdobnou funkci jako Agouti protein. Liší se však svou afinitou k aktivnímu centru MC1R receptoru, která je pro produkty CBD103 genu mnohonásobně vyšší. Je možné, že dochází ke kompetici obou produktů. Přesný mechanismus však doposud není znám (Candille et al., 2007).

Expresí obou genů vyžaduje funkční MC1R receptor. Epistáze mezi lokusy K a A je závislá na konkrétních alelách v genotypu. Obecně lze tvrdit, že alely pro černé zbarvení jsou vždy epistatické nad žlutými (Kerns et al., 2007).

Dominance alel lokusu K je $K^B > k^{br} > k^y$.

K^B – alela pro dominantní černou. Eumelanin je produkován po celém těle a srst tak dostává černou nebo hnědou barvu. Vůči ostatním alelám lokusu je úplně dominantní.

Tato forma genu obsahuje delecí 3 bp v exonu 2, v důsledku čehož dochází k delecí p.Gly23del a zkrácení polypeptidového řetězce na N-terminálním konci. Produkt tohoto genu vyšší afinitou k MC1R receptoru pravděpodobně působí jako neutrální antagonist, znemožňuje navázání Agouti proteinu a podporuje původní funkci receptoru, kterou je produkce eumelaninu. Dalším způsobem mechanismu by mohla být zvýšená afinita k aktivnímu centru v důsledku mutace a zkrácení polypeptidového řetězce (Candille et al., 2007).

Ve fenotypu se neprojeví žihání (k^{br}/k^{br}), pálení (a^t/a^t) a ani maska ($E^M/-$). Tyto vlohy se však předávají dál na potomky (Kerns et al., 2007).

Intenzita zbarvení může být ovlivněna geny pro ředění pigmentu. Výsledným fenotypem by v takovém případě byla modrá srst nebo lila.

k^{br} – název je odvozen od anglického slova brindle. Genotyp k^{br}/k^{br} a k^{br}/k^y se ve fenotypu projevuje nepravidelným tmavým žiháním na žlutém pigmentu. Zbarvení je dále determinováno lokusem A. U jedinců s genotypem k^{br}/k^{br} a^t/a^t se žihání projeví v plochách světlého pigmentu. Jedním z možných vysvětlení výskytu brindle zbarvení je přítomnost nestabilní alely, která udržuje svůj stav epigeneticky v průběhu vývoje a migrace keratinocytů v prenatalním období. Vzhledem k nepravidelnosti vzoru je epigenetický vliv vysoce pravděpodobný (Kerns et al., 2007).

k^y – jedná se o divokou formu alely, která v homozygotní sestavě umožňuje antagonistický vliv Agouti proteinu na MC1R receptor a následnou produkci feomelaninu v závislosti na konkrétní formě ASIP genu (Candille et al., 2007).

Je recesivní vůči ostatním alelám v lokusu. Její název je odvozen z anglického slova yellow. Umožňuje expresi alel na lokusu A.

Typická je například pro německé ovčáky se zbarvením typu rex, které je dále determinováno homozygotní sestavou a^t/a^t (Kerns et al., 2007).

3.3.1.3 A Lokus

Lokus A (Agouti) byl zmapován na 24. chromozomu psa. Gen Agouti signaling protein (ASIP) kóduje Agouti protein, parakrinní signální molekulu působící jako antagonist transmembránového MC1R receptoru. Tento protein umožňuje přeměnu syntézy tmavého pigmentu na syntézu světlého a regulaci tohoto procesu (Kerns et al., 2004).

Za normálních okolností zahajuje aktivní MC1R syntézu eumelaninu, působením Agouti proteinu je však aktivita receptoru inhibována a dochází k aktivaci syntézy feomelaninu (Lu et al., 1994).

Jedná se pravděpodobně o gen s nejvyšším počtem popsanych alel, které umožňují vysokou variabilitu ve zbarvení srsti psů. Projev alel lokusů E a A spolu úzce souvisí. Genotyp e/e totiž znemožňuje projev Agouti lokusu a produkci eumelaninu, proto je pro jeho expresi nezbytný genotyp $E^M/-$ nebo $E/-$ (Dostál, 2007).

Na molekulární úrovni byly potvrzeny čtyři alely s následnou dominancí $A^y > a^w > a^t > a$ (Schmutz et Berryere, 2007). Všechny čtyři alely byly doposud identifikovány jen u plemene eurasier (Dreger et Schmutz, 2011).

A^y – dominantní alela. Genotyp $A^y/-$ se projevuje zbarvením plavá (fawn) nebo sobolí (sable). Jde o žlutý až červený fenotyp. Chlupy mohou mít tmavší zakončení a u některých plemen se vyskytují i jednotlivé černé chlupy. Jde o jednu z nejčastějších alel v populaci psa domácího (Schmutz et Berryere, 2007).

Od divoké alely a^w se liší dvěma missense mutacemi c.246G>T a c.250G>A a substitucemi p.Ala82Ser a p.Arg83His ve 4. exonu (Berryere et al., 2005).

a^w – divoká alela. V srsti jedinců s genotypem $a^w/-$ se střídá eumelanin i feomelanin, čímž vznikají v srsti i v jednotlivých chlupech charakteristické pruhy žlutého a tmavého pigmentu. Výsledné zbarvení „agouti“ je podobné vlčí srsti (Schmutz et Berryere, 2007).

Typická je pro tento fenotyp převaha feomelaninu na ventrální části těla a eumelaninu na dorzální části (Dreger et Schmutz, 2011).

Dle Berryere et al. (2005) se na konečném vlkošedém fenotypu podílí také modifikující geny ředící feomelanin.

a^t – v homozygotní sestavě a^t/a^t se projevuje pálením typickým pro plemena dobrman, rotvajler, jezevčík, manchesterský teriér a další. V kombinaci s genem pro strakatost dává vzniknout zbarvení tricolor u mnoha plemen.

Feomelaninové plochy mohou mít různou intenzitu od červené po žlutou. Většinou jsou lokalizovány na tvářích, hrudních i pánevních končetinách, vnitřní straně uší, nad očima a na hrudníku (Dreger et Schmutz, 2011).

V kódující sekvenci (exon 4) se tato alela nijak neliší od alely a^w (Berryere et al., 2005). Rozdíl mezi těmito alelami je v 239 bp SINE (short interspersed nuclear element) inzerci v intronu 1 ASIP genu. Dále má tuto inzerci recesivní alela a . Stejný genotyp a inzerce byly identifikovány i u 8 jedinců se zbarvením tvořící sedlo. Jedinou výjimku pro genotyp a^w/a^w tvoří knírači, u nichž byla také nalezena SINE inzerce.

Přítomnost SINE může způsobit narušení sestřihu transkriptů a zahrnutí části sekvence SINE do regulačního exonu. Takováto změna v regulačním exonu kontrolujícím feomelaninové pruhování jednotlivých chlupů by mohla zabránit expresi ASIP a vzniku pruhování. To by

potvrzovalo, že se SINE inserce opravdu nachází v těsné blízkosti regulačního exonu (Dreger et Schmutz, 2011).

Newton et al. (2000) předpokládají, že se jedná o lokální inhibici signálních drah MC1R receptorů expresí Agouti proteinu. Kerns et al. (2004) s touto hypotézou souhlasí.

a – recesivní alela, někdy nazývána také nonagouti. Ve spojitosti s touto alelou byla identifikována missense mutace ve 4. exonu g.427C>T s následnou substitucí p.Arg96Cys. Výsledkem této mutace je v případě recesivních homozygotů zbarvení nesoucí název recesivní černá. Jde o plemenně specifické zbarvení týkající se německých ovčáků a belgických ovčáků groenendaelů. Alela se v heterozygotní sestavě vyskytuje i v populaci australských ovčáků, border kolií a šeltií. U některých zástupců těchto plemen dochází k interakci recesivně homozygotní sestavy **a/a** s dalšími geny a vzniká tak například zbarvení bi-black šeltií či modré zbarvení německých ovčáků nařazením eumelaninu (Kerns et al., 2004).

3.3.1.4 B Lokus

Na lokusu B (Brown) se nachází gen Tyrosinase related protein 1 (TYRP1), který byl zmapován na 11. chromozomu.

Produkt tohoto genu, enzym TYRP1, je lokalizován přímo v melanocytech, kde se podílí na syntéze eumelaninu jako DHICA oxidasa a stabilizuje tyrosinasu. Jakým způsobem dochází k preferenci tvorby černého eumelaninu před hnědým zatím nebylo objasněno (Kobayashi et al., 1994).

TYRP1 je exprimován nezávisle v srsti i ve tkáni nosní houby, očních víček a polštářů. Genotyp lze tak odhadnout i u jedinců s recesivně homozygotní sestavou v MC1R genu **e/e** (Schmutz et al., 2002).

Mezi alely lokusu B patří **B** > **b** (**b^s** / **b^d** / **b^e**).

B – dominantní alela. Jejím produktem je funkční TYRP1 enzym umožňující průběh syntézy melaninu v závislosti na ostatních alelách genotypu. Vlivem **B** alely vzniká černé zbarvení nosní houby a polštářů (Schmutz et al., 2002).

Jedinci s genotypem **A^y/B-** mají tmavší žluté zbarvení (Dostál, 2007).

b – recesivní alela TYRP1 genu.

Schmutz et al. (2002) popsali tři různé mutace v alele **b**. Varianty recesivní alely označili alely jako **b^s**, **b^d** a **b^c**. V homozygotní sestavě dají dvě jakékoliv alely z těchto tří recesivních vždy vzniknout hnědému fenotypu. V exonu 5 se vyskytují dvě mutace. Varianta **b^s** obsahuje v tomto exonu nonsense mutaci c.991C>T vedoucí k předčasnému stop kodonu p.Gln331ter. Druhá varianta **b^d** obsahuje v exonu 5 in-frame delecí tří nukleotidů c.1033_1035del kodujících prolin (p.Pro345del). Třetí varianta **b^c** se vyznačuje mutací v exonu 2 c.121T>A a následné substitucí serinu za cystein (p.Ser41Cys).

V populaci některých plemen se v genotypu hnědých jedinců tyto polymorfismy nevyskytují. Je možné, že je hnědé zbarvení v tomto případě způsobeno dosud nepopsanými alelami. Jejich výskyt by však byl vzácný. Ačkoliv se v populaci psů vyskytují různé odstíny hnědé srsti, nebyla vyzorována žádná spojitost mezi konkrétním odstínem a určitým genotypem (Schmutz et Berryere, 2007).

Hrkova Turnova et al. (2017) identifikovali ve vrhu štěňat australských ovčáků novou nonsense mutaci c.555T>G (p.Tyr185ter) v exonu 2 vedoucí k předčasnému stop kodonu a delecí 353 aminokyselinových zbytků, přestože v genotypu jejich matky nebyla přítomna ani jedna z doposud známých mutací. Hnědý fenotyp jednoho sourozence matky a dvou štěňat byl pravděpodobně zapříčiněn kombinací této nové mutace v jedné alele a **b^d** nebo **b^s** ve druhé alele genu. Nová mutace byla potvrzena u čtyř přímých sourozenců fený a její matky, nikoliv však u třiceti nepříbuzných australských ovčáků.

3.3.1.5 D Lokus

Název lokusu D, dilution, lze z angličtiny přeložit jako rozředění, zesvětlení, zeslabení. Funkcí genu melanophilinu (MLPH) v tomto lokusu je totiž kontrola hustoty melanozomů v chlupech (Dostál, 2007). Gen se nachází na 25. chromozomu.

Protein, který je kódován MLPH genem, je součástí melanozom-transportního komplexu. Philipp et al. (2005) se domnívají, že pokud je funkce genu narušena mutací, dochází k defektnímu transportu melanozomů, jejich kumulaci okolo jádra melanocyty a tvorbě velkých shluků pigmentu uvnitř chlupu.

MLPH gen má dvě alely **D** a **d**, mezi kterými platí úplná dominance.

D – divoká alela. Hustota granulí pigmentu zachovává původní intenzivní zbarvení determinované ostatními geny (Dostál, 2007).

d – recesivní alela podmiňující řídké rozvrstvení granulí, které zmírňuje intenzitu zbarvení. Z černého zbarvení srsti se tak stává modré, z hnědého plavé a genotyp **b/b d/d** se projeví vzácnou stříbrošedou barvou (Dostál, 2007).

U zástupců 20 plemen s odpovídajícím fenotypem pro recesivně homozygotní sestavu **d/d** byla nalezena mutace c.-22G>A v exonu 1 (Welle et al., 2009).

Bauer et al. (2018) sekvenovali genom modrého čau čau, u kterého se doposud známý polymorfismus neprokázal, a objevili novou mutaci c.705G>C. Ve své práci proto navrhuji označení **d¹** pro SNP c.-22G>A a **d²** pro c.705G>C. Výskyt alely **d²** následně potvrdili u dalších 15 čau čau, štěněte sloughi a thajského ridgebacka. V kontrolní skupině 417 psů z 56 plemen nebyla alela nalezena.

Změna transportu pigmentu ovlivňuje srst i kůži, s čímž jsou často spojována určitá onemocnění. Mezi nejčastější patří BHFD (black hair follicular dysplasia) a CDA (colour dilution alopecia) (Philipp et al., 2005). Z toho důvodu některé chovatelské kluby neuznávají jedince s genotypem **d/d** a jejich zbarvení je označeno za nestandardní.

3.3.1.6 M Lokus

Clark et al. (2006) zmapovali gen SILV na 10. chromozomu psa. Lokus dostal název Merle (M) podle fenotypu, který vzniká působením mutace genu. SILV gen se pravděpodobně podílí na biosyntéze premelanozomů, přesná funkce však doposud nebyla objasněna. Je exprimován v kůži i v rohovce.

Merle fenotyp se vyznačuje přítomností nepravidelných ploch zředěného eumelaninu v srsti v kombinaci s nezředěným. Merle zbarvení se vyskytuje všude po těle kromě feomelanických oblastí v srsti černých psů s pálením. S projevem genu jsou spojována určitá zdravotní rizika, na která je třeba brát ohled při výběru krycího páru (Hédan et al., 2006).

SILV gen má dvě alely, **M** a **m**, mezi kterými platí neúplná dominance.

M – dominantní alela podmiňující merle zbarvení. Gen v této formě obsahuje SINE inzerci v průměru 253 bp na hranici intronu 10 a exonu 11.

Merle fenotyp – **Mm** – se projevuje již zmíněnými oblastmi zředěného pigmentu kdekoliv po těle. Zbytek srsti je zbarven intenzivně v závislosti na genotypu. Mutace ovlivňuje i pigmentaci duhovky. Častým jevem je heterochromia iridis nebo modré oči (Hédan et al., 2006). Merle zbarvení je typické pro mnohá pastevecká plemena, mezi která patří border kolie, australský ovčák, dlouhosrstá a krátkosrstá kolie a další.

Double merle – **MM** – jedinci jsou většinou zbarveni téměř bíle nebo úplně bíle a mají modré oči. Nositelé tohoto genotypu se potýkají s různými vrozenými vadami, mezi které patří hluchota, slepota, mikroftalmie, skeletální defekty, sterilita, zvýšený oční tlak a další (Hédan et al., 2006).

Strain (1999) zdůvodňuje ztrátu sluchu degenerací nebo zánikem melanocytů v hlemýždi.

Tyto vady jsou spojovány s mutací jako takovou. K jejich projevu tedy dochází i v případech heterozygotů, ačkoli v menší míře (Clark et al., 2006).

Někteří jedinci nevykazují merle fenotyp, přestože jej přenáší na potomky. Tomuto jevu se říká cryptic merle. Miluchová et al. (2015) uvádí, že cryptic merle jedinci mají zkrácený poly(A) konec SINE inzerce na 54 – 65 nukleotidů. V případě alely umožňující expresi merle je poly(A) konec SINE inzerce dlouhý 91 – 101 nukleotidů. Alelu s kratším poly(A) koncem označují jako **Mc**. Jedinci s genotypem **Mc/m** jsou kryptičtí merle a mohou přenášet merle zbarvení na potomky. Genotyp **M/Mc** se projeví ve fenotypu klasickým merle zbarvením.

m – recesivní divoká alela. Jedinci s genotypem **m/m** nejsou merle fenotypem nijak postiženi (Miluchová et al., 2015).

3.3.2 Testování genotypu pro kvalitu (typ) osrstění

Jedním z nejdůležitějších plemenných znaků je kvalita osrstění. Více než 15 000 let domestikace a selekce dalo vzniknout v populaci psa domácího velké fenotypové diverzité. Mezi nejčastější typ srsti patří srst označována jako hladká, krátká, hrubá (drsňá), dlouhá, kudrnatá, případně jsou jedinci bez srsti. Typy srsti se od sebe liší různými vlastnostmi, jako jsou například délka chlupů, hustota, jemnost srsti, zvlnění, přítomnost či absence podsady a další. U některých plemen se stala tato důležitá charakteristika součástí jejich názvu.

Na základě tří základních vlastností, mezi které patří (I) přítomnost či absence furnishings (znaky vousů a obočí), (II) délka srsti a (III) přítomnost či absence kudrlin, vytvořili Cadieu et al. (2009) 7 fenotypových kategorií, do kterých se následně snažili zařadit 1000 psů z 80 plemen pomocí sekvenace jejich genotypu. Byly takto objeveny tři geny – FGF5, RSPO2, KRT71 – ovlivňující kvalitu srsti. Mutace aspoň v jednom z těchto tří genů byla nalezena u 95 % psů. Krátkosrstá plemena mají všechny tři geny v nezmutované podobě čili původní. Žádná z mutací se nevyskytla ani u tří genotypovaných vlků obecných. Autoři se domnívají, že se mutace objevovaly postupně a šířily se dále na potomstvo prostřednictvím hybridizace. Touto

cestou byla na genotypové úrovni popsána srst krátká, hrubá (drsňá), hrubá (drsňá) a kudrnatá, dlouhá, dlouhá s furnishings, kudrnatá a kudrnatá s furnishings (tab. 2).

V praxi se testování vloh pro kvalitu srsti týká především chovatelů plemen, jejichž standardy povolují více variant srsti.

Tab. 2: Kombinace alel tří genů vytváří sedm fenotypových kategorií (Cadieu et al., 2009)

Fenotypový projev srsti	FGF5	RSPO2	KRT71
Krátká	-	-	-
Hrubá	-	+	-
Hrubá a kudrnatá	-	+	+
Dlouhá	+	-	-
Dlouhá s furnishings	+	+	-
Kudrnatá	+	-	+
Kudrnatá s furnishings	+	+	+

(+) – variantní genotyp

(-) – původní genotyp

3.3.2.1 Bezsrstost

Tento typ srsti se vztahuje na plemena čínský chocholatý pes, peruánský naháč a mexický naháč.

Je projevem duplikace 7 bp v exonu 1 genu FOXI3 na 17. chromozomu, který někdy dostává také označení lokus Hr. Vlivem duplikace dochází k frameshiftu a předčasnému stop kodonu. Dědičnost tohoto znaku je autozomálně dominantní. V homozygotní sestavě je mutace letální a vede k úmrtí během embryonálního vývoje, v důsledku čehož se rodí bez srsti jen heterozygoti **Hr/N**. K tomuto typu srsti jsou přidruženy dentální abnormality. Celý fenotyp lze označit za ektodermální dysplazii (Drögemülder et al., 2008).

FOXI3 je exprimován v epitelu ektodermálních orgánů, zubech a chlupových folikulech v průběhu embryogeneze, nikoliv však v epidermis (Shirokova et al., 2013).

Ve vrhu se společně s bezsrstými variantami vždy rodí i osrstění jedinci bez mutace. U plemene čínský chocholatý pes se osrstěnému fenotypu říká labutěnka (Parker et al., 2017).

Obě varianty se na histologické úrovni liší ve stavbě chlupových folikulů. Zatímco jedinci nesoucí v genotypu mutaci mají jen jednoduché primární folikuly, folikuly osrstěných jedinců jsou složeny stejně tak, jako je tomu u ostatních plemen (Wiener et al., 2013).

Mutace ve FOXI3 genu pochází ze společného předka všech tří plemen. Nelze však určit, které plemeno vzniklo jako první (Parker et al., 2017).

Druhý typ bezsrstého fenotypu se týká plemene americký bezsrstý teriér, které je neuznané FCI. Znak bezsrstosti je u tohoto plemene dědičný recesivně, v homozygotní sestavě nepůsobí letálně a s fenotypem nejsou spojena žádná vrozená onemocnění. Štěňata se rodí osrstěná a během pár měsíců srst ztrácí. Původcem je delece čtyř bází (TTAG) v exonu 4 genu SGK3 na chromozomu 29. Delece bází dochází k frameshiftu na 96. aminokyselině, vzniká nová proteinová sekvence pro 50 aminokyselin a předčasný stop kodon na místě 157. aminokyseliny. Genový produkt se stává nefunkčním. Za normálních okolností se SGK3 gen podílí na postnatálním vývoji folikulů (Parker et al., 2017).

3.3.2.2 Délka srsti

Genem determinujícím délku srsti je FGF5 (fibroblast growth factor 5) na 32. chromozomu. Doposud bylo popsáno 5 mutací vedoucích k dlouhé srsti za předpokladu, že jsou mutace v obou alelách. Znak je autozomálně recesivně dědičný.

První mutaci objevili Cadieu et al. (2009) v exonu 1, kde dochází k záměně bází c.284G>T a substituci p.Cys95Phe. Polymorfismus se nevyskytuje v populacích plemen afghánský chrt, japonský čin, samojed, silky teriér, jorkšířský teriér, akita inu a americká akita.

Další mutace objevili o pár let později Dierks et al. (2013). První z nich je g.8193T>A v intronu 1 brání sestřihu exonu 2. Společně s polymorfismem c.559_560dupG vysvětluje dlouhosrstý fenotyp afghánských chrtů. Druhou mutací je již zmíněná duplikace c.559_560dupG v exonu 3 vedoucí k frameshiftu a vzniku předčasného stop kodonu, stejně jako třetí mutace c.556_571del vyskytující se jen u eurasierů. Produktem obou alel je velmi podobný zkrácený protein. Čtvrtou mutací je c.578C>T (p.Ala193Val) v exonu 3. Substitucí pravděpodobně vzniká nefunkční protein. Polymorfismus je typický pro akity, sibiřské husky a samojedy.

Na rozdíl od předešlé studie našli Dierks et al. (2013) mutaci p.Cys95Phe i u afghánského chrtá. Výsledky sekvencování genotypů naznačují, že polymorfismy g.8193T>A a c.559_560dupG pochází od předků tohoto plemene.

3.3.2.3 Kudrnatá srst

Přítomnost kudrnaté srsti je podmíněna mutací genu KRT71 (Keratin 71) na chromozomu 27. Dále je projev znaku závislý na délce srsti. Polymorfismem způsobujícím kudrnatění je záměna cytosinu za thymin a substituce p.Arg151Trp v exonu 2. Jedná se o znak s autozomálně dominantní dědičností (Cadieu et al., 2009).

Kudrnatá srst je typická pro plemena portugalský vodní pes, španělský vodní pes, pudl, erdelteriér a curly coated retriever.

3.3.2.4 Znaky obočí a vousů (furnishings)

Furnishings neboli výrazné znaky obočí a vousů vznikají u jedinců, kteří jsou homozygotní nebo heterozygotní v inzerci 167 bp v 3'UTR oblasti genu RSPO2 (R-spondin-2) na 13. chromozomu. Znak se dědí autozomálně dominantně. RSPO2 podporuje růst srsti a ovlivňuje Wnt signální dráhu. Mutace neovlivňuje výsledný protein, protože se nenachází v kódující oblasti, ale zvyšuje míru exprese genu. V kůži v oblasti čenichu bylo naměřeno až trojnásobné množství transkriptů (Cadieu et al., 2009).

Furnishings je znakem patřícím k exteriéru drsnosrstých jezevčků, erdelteriérů, bruselských grifonků, bišonků, bearded kolií a dalších.

3.3.2.5 Nestandardní osrstění

Nestandardní osrstění (improper coat – IC) je osrstění netypické, vyskytující se v populaci určitého plemene zřídka. Týká se několika konkrétních plemen psů, avšak nejznámějším případem je portugalský vodní pes. FCI standard portugalského vodního psa povoluje v chovu dvě varianty srsti - dlouhá zvlněná a kratší kudrnatá. Obě varianty jsou bez podsady. Oproti standardním jedincům, u kterých pokrývá celé tělo rovnoměrně hustá srst, jsou nestandardní jedinci osrstění krátkou srstí na hlavě, nohou a v obličejové části a delší rovnou až mírně vlnitou na zbytku těla. Celkový vzhled potom připomíná spíše curly coated retrievera nebo flat coated retrievera (Parket et al., 2010).

Dlouhá zvlněná srst je výsledkem působení homozygotní sestavy FGF5 se substitucí p.Cys95Phe. V genotypu psů s kudrnatou srstí je navíc přítomna aspoň jedna alela KRT71 se substitucí p.Arg151Trp. Obě varianty srsti by měly mít aspoň jednu alelu s inzercí 167 bp v RSPO2 genu související s texturou srsti a znaky furnishings (Cadieu et al., 2009).

V návaznosti na dřívější studii (Cadieu et al., 2009), ve které byli 2 jedinci ze skupiny portugalských vodních psů negativní pro přítomnost mutované alely RSPO2, pokračovali Parks et al. (2010) v hledání příčiny fenotypu IC. Došli k závěru, že inzerce 167 bp v RSPO2 u psů s nestandardní srstí zcela chybí a fenotyp je projevem původní alely. Znak se dědí autozomálně recesivně.

IC fenotyp se dále vyskytuje u plemen havanský psík a u kříženců labradoodle.

3.3.2.6 Línavost

Hayward et al. (2016) zmapovali dopodrobna celý genom 4 200 psů z 32 zemí světa a pomocí 180 000 markerů identifikovali lokusy související s dysplazií kyčelního kloubu, dysplazií loketního kloubu, idiopatickou epilepsií, lymfomy, mastocytomy a Crohnovou nemocí. Dále tři lokusy ovlivňující velikost těla a jeden pro délku srsti a stupeň línání.

Ve spojitosti s mírou línání identifikovali na 1. chromozomu gen MC5R (Melanocortin receptor 5). Zařazení thyminu místo cytosinu v 61. pozici způsobuje mutaci p.Arg237Thr, změnu terciární struktury proteinu a vazebných míst. Výsledný protein je poté patrně poškozený.

MC5R, gen pro melanokortinový receptor, je exprimován v mazových žlázách chlupových folikulů. Svou aktivitou působí na produkci kožního mazu, termoregulaci a odolnost srsti proti vodě. Hayward et al. (2016) se domnívají, že existuje spojitost mezi typem srsti určeným RSPO2 a produkcí kožního mazu, která je ovlivněna expresí MC5R. Tyto dva geny dohromady determinují míru línání jedince.

Plemena s nízkým stupněm línání srsti (pudl, bišonek) jsou nositeli homozygotní inzerce v RSPO2 genu, zatímco plemena s vysokým stupněm línání srsti (akita, aljašský malamut) mají původní formu MC5R v homozygotní sestavě a aspoň jednu původní alelu RSPO2. U středně línajících plemen (mops, kokršpaněl) se vyskytuje alela MC5R s mutací a alela RSPO2 původní. Obecně lze tedy říci, že evolučně původní alely způsobují vysokou míru línání a mezi alelami působí neúplná dominance.

3.3.3 Ověřování původu

Metoda analýzy DNA představuje efektivní strategii chovu, která umožňuje identifikaci jedinců, ověření rodičovství, kontrolu genetické diverzity a rozšíření genetické základny v rámci chovu čistokrevných plemen (Dimitrijevic et al., 2013).

K ověření původu potomků jsou zapotřebí DNA profily rodičů i potomků. DNA profily se zakládají na identifikaci konkrétních STR (short tandem repeats) markerů v genomu.

3.3.3.1 STR

Jedná se o krátké segmenty mikrosatelitní DNA sestávající z mnohokrát se opakujících specifických nukleotidových sekvencí dlouhých 1 – 6 bp. Počet opakování sekvence bází v lokusu definuje alelu. Většinou bývají kratší než 100 bp a jsou ohraničeny tzv. přílehlými úseky (flanking regions). Každý marker má své vlastní přílehlé úseky charakteristické konkrétním sledem bází. STR jsou lokalizovány v exonech i intronech všech eukaryotických organismů a v menší míře i prokaryotických (Tautz, 1989).

Mikrosatelity jsou rozptýleny po celém genomu a jsou vysoce polymorfní. Proto jsou vhodné k určování původu napříč plemeny a k využití v mapování genomu psa (Ichikawa et al., 2001).

Potomek zdědí jednu alelu po matce a jednu po otci. STR markery se dědí mendelisticky, platí mezi nimi kodominance.

Struktura a délka markerů je stanovena prostřednictvím multiplex PCR. Jaderné mikrosatelity jsou velmi specifické, proto je potřebný odpovídající primer sestavený speciálně pro konkrétní typ STR. Následuje amplifikace, elektroforéza a analýza prostřednictvím softwaru (Eichmann et al., 2005). Většina laboratoří izoluje jadernou DNA z EDTA krve, případně z chlupových cibulek nebo bukálních stěrů.

3.3.3.2 Výběr mikrosatelitních markerů

O výběru kandidátních mikrosatelitů bylo vydáno mnoho publikací (Ichikawa et al., 2001; Eichmann et al., 2005; Van Asch et al., 2009; Wictum et al., 2013). Vhodnost markerů byla určována na základě několika konkrétních ukazatelů populační genetiky:

- Heterozygotita
- Diskriminační síla (Power of Discrimination)

- Polymorfní informační obsah (Polymorphism Information Content)
- Pravděpodobnost vyloučení z otcovství (Power of Exclusion)
- Fixační index (Fixation Index)
- Pravděpodobnost náhodné shody (Random match probability)

Žádoucí jsou především markery s vysokou heterozygotitou a PIC.

3.3.3.3 DNA Profil

DNA profil je spolehlivý prostředek pro identifikaci zvířat. Je založen na analýze STR markerů daného jedince. Využívá se například pro potvrzení původu při krádeži, prodeji štěňat nebo ověření rodičovství v případě, že není objasněno, kdo je otec nebo matka potomků.

V současnosti se v České republice k sestavení DNA profilů nejčastěji používá soubor markerů dle ISAG – International Society for Animal Genetics. Tato společnost se věnuje sestavování DNA profilů a ověřování původu nejen psů, ale i koní, skotu, ovcí, koz a prasat. ISAG uděluje licence laboratořím po celém světě a jednou za dva roky provádí kontrolu kvality. Z českých laboratoří jsou aktuálně držiteli licence Českomoravská společnost chovatelů, Genomia, GenRex, Genservice a Vemodia. Směrnice ISAG doporučuje i FCI v rámci sjednocení chovů na území Evropy. Kompatibilita DNA profilů založených na stejných osvědčených markerech usnadňuje výběr krycího páru při zahraničním krytí.

V roce 2011 vydala společnost ISAG seznam 23 doporučených STR markerů pro sestavování DNA profilů a ověřování původu psů. Tyto markery rozdělili do dvou multiplexů:

1. AHT121 - AHT171 – AHT253 – C22.279 – FH2001 – FH2054 – FH2164 – FH2611 - FH2247 - FH2289 - INRA21 – PEZO8
2. AHTk211 – LEI2D2 – FH2326 – FH2328 – FH2361 – PEZ12 – PEZ22 – FH2305 – PEZ03 – PEZ10 – PEZ11

Po certifikovaných laboratořích není vyžadována analýza všech zmíněných mikrosatelitů, avšak minimum je 10. Typ alely se v DNA profilu značí číselně.

Analýza DNA psů nachází kromě chovatelství využití také ve forenzních vědách. Ogden et al. (2012) uvádí psí genetickou informaci jako vhodný materiál při vyšetřování trestné činnosti. V praxi je tento materiál využíván jako důkaz čím dál častěji. Může tvořit vodítko

mezi pachatelem, místem činu a corpus delicti. V UK se psí DNA využívá k řešení zločinu už přes 10 let (vraždy, týrání zvířat).

3.3.3.4 Ověření rodičovství

V případě nejistoty, že uvedení rodiče štěnat jsou opravdu rodiči biologickými, lze tuto skutečnost ověřit porovnáním DNA profilů potomků s profily domnělých rodičů.

Každá alela každého markeru potomka by měla být přiřazena k alele profilu rodičů. Díky vysokému stupni polymorfismu vybraných markerů a nízké pravděpodobnosti vzniku mutací lze touto cestou s jistotou potvrdit či vyvrátit rodičovství.

Této metody se využívá, pokud byla fena během estru nakryta více psy a zabřezla. Ověření původu si může také vyžádat chovatelský klub, jestliže během kontroly vrhu vznikne podezření, že byla štěnata podvržena. Vrh je do plemenné knihy zapsán i v případě, že se původ nepotvrdí. Jsou vystaveny průkazy původu, ale štěnata nemohou být uchovněna. Chovatel je sankcionován dle řádů a stanov ČMKU a chovatelského klubu, pod který spadá jím chované plemeno.

Některé chovatelské kluby vyžadují DNA profil ke splnění bonitace. Jsou i chovatelé, kteří vystavují svým odchovům DNA profily jako součást potvrzení původu.

3.3.4 Diagnostika dědičných onemocnění

Nejčastější využití mezi chovateli psů nachází molekulárně genetické metody v diagnostice dědičných onemocnění. Ve spolupráci se zahraničními subjekty jsou laboratořemi na území České Republiky chovatelům nabízeny desítky vyšetření. Na základě výsledků se sestavují potenciální rodičovské páry a někdy také rozhodují o tom, zda bude jedinec vůbec vpuštěn do chovu. Dále tato vyšetření umožňují také identifikaci přenašečů bez fenotypových projevů.

3.3.4.1 Poruchy dýchací soustavy

Primární ciliární dyskineze

Jedná se o autozomálně recesivní onemocnění postihující řasinky epitelálních buněk a bičíky spermií. Mutace p.Arg96X v exonu 3 genu CCDC39 na chromozomu 34 zkracuje výsledný protein o 90 %, čímž se snižuje motilita řasinek a bičíků. Mezi charakteristické projevy onemocnění patří opakující se záněty horních a dolních dýchacích cest, snížená

plodnost samců a situs inversus (Kartagenerův syndrom) v případě zhruba 50 % postižených. PCD byla zaznamenána u více plemen psů, doposud však byla kauzální mutace popsána jen u plemene bobtail (Merveille et al., 2011).

3.3.4.2 Poruchy endokrinní soustavy

Dwarfismus (hypofyzární nanismus)

Hypofyzární dwarfismus, někdy nazýván také nanismus, je způsoben nedostatečným vývojem hypofýzy a nízkou produkcí esenciálních adenohypofyzárních hormonů, mezi které patří růstový hormon (GH), tyreotropní hormon (TSH), prolaktin (PRL) a gonadotropiny (FSH, LH). Sekrece adrenokortikotropního hormonu (ACTH) však zůstává zachována. Pravděpodobným vysvětlením pro tento jev je přítomnost genetického defektu dávajícího vzniku transkripčnímu faktoru, který brání efektivnímu transportu kmenových buněk hypofýzy během či po diferenciaci kortikotropních buněk v průběhu embryonálního vývoje (Voorbij et Kooistra, 2009).

Voorbij et al. (2011) sekvenovali kandidátní gen LHX3 na chromozomu 9 a odhalili delecii jedné ze šesti repetitivních 7 bp v intronu 5 vedoucí ke zkrácení intronu a chybnému sestřihu.

Tato mutace se nejčastěji vyskytuje u německého ovčáka a dalších dvou plemen, která jsou mu blízká – československého vlčáka a saarlosova vlčáka (Voorbij et al., 2014).

Hlavními klinickými příznaky tohoto autozomálně recesivního onemocnění jsou poruchy růstu a alopecie (Voorbij et Kooistra, 2009).

3.3.4.3 Poruchy imunitního systému

CLAD

Canine leukocyte adhesion deficiency je vrozené imunodeficientní onemocnění irských setrů s autozomálně recesivní dědičností. Jedná se o poruchu β 2-integrinu (CD18), který umožňuje adhezi leukocytu k místu zánětu. V důsledku missense mutace p.Cys36Ser v genu ITGB2 nevzniká potřebná disulfidová vazba, čímž dochází k narušení stavby a funkce molekuly integrinu, nedostatečné imunitní reakci a rozvoji opakovaných, život ohrožujících infekcí (Kijas et al., 1999).

Syndrom uvězněných neutrofilů border kolii

Tato autozomálně recesivní neutropenie je charakteristická nedostatkem segmentovaných neutrofilů v krvi a hyperplazií myeloidních buněk kostní dřeně. Neutrofilové dozrávají v kostní dřeni, ale nedochází k jejich transportu do krevního oběhu a tkání. Postižení jedinci vykazují morfologické změny v kraniofaciální oblasti. V porovnání se svými vrstevníky jsou často menšího vzrůstu a trpí chronickými infekcemi v důsledku nefunkčního imunitního systému. Kauzální mutací je g.4411956_4411960del v exonu 19 genu VPS13B na chromozomu 13 (Shearman et Wilton, 2011).

3.3.4.4 Poruchy metabolismu

Cystinurie

Toto autozomálně recesivní onemocnění ledvin a střeva je charakteristické poruchou resorpce aminokyselin lysinu, ornitinu a argininu a cystinovou urolitiázou. Cystinurie je geneticky heterogenní a byla zaznamenána u více než 60 plemen psů. Henthorn et al. (2000) identifikovali mutaci v genu SLC3A1, která vyvolává tuto poruchu u novofunlandských psů.

Glykogenózy

Pod označení glykogenózy spadá několik autozomálně recesivních poruch metabolismu glykogenu vyskytujících se u všech živočišných druhů. Způsobují hromadění glykogenu ve tkáních a narušení glukózové homeotázy. Klinické příznaky závisí na konkrétní formě a závažnosti poruchy (Gregory et al., 2007).

V současnosti je veřejnosti dostupná detekce těchto forem:

Ia – Gierkeho nemoc maltézských psů. Postižení jedinci mají drobnější konstituci, zvětšená bledá játra a bledé ledviny. V hepatocytech se tvoří vakuoly s velkým množstvím glykogenu a malým množstvím lipidů (Brix et al., 1995). Kauzální mutací je substituce c.450G>C v genu kódujícím enzym glukosa-6-fosfatasa. Enzym exprimovaný takto defektním genem je patnáctkrát méně aktivní než původní forma (Kishnani et al., 1997).

II – Pompeho nemoc laponských psů. V důsledku nonsense mutace c.2237G>A v genu GAA dochází k deficitu α -glukosidasy, enzymu, který je esenciální pro štěpení glykogenu v lysozomech. Hromadění glykogenu vede k destrukci tkání (Seppälä et al., 2013).

IIIa – u curly coated retrieverů způsobuje tuto formu mutace c.4223del v genu AGL, čímž je narušena exprese odvětvovacího enzymu glykogenu. Glykogen s abnormální strukturou se ukládá v játrech a tkáních. Vede například k rozvoji kardiomyopatie (Gregory et al., 2007).

VII – Taruiho nemoc, známá také pod názvem deficit fosfofruktokinasy. Postihuje americké a anglické kokršpaněly, anglické špringršpaněly a whippety. Kauzální mutace c.2228G>A v exonu 21 PFK genu vede k degradaci a zkrácení exprimovaného proteinu. To se u postižených psů projevuje kompenzovanou hemolytickou anémií a metabolickou myopatií (Smith et al., 1996).

Imerslundové-Gräsbeckův syndrom

IGS je autozomálně recesivní onemocnění charakteristické malabsorpcí kobalaminu enterocyty a proteinurií. Nedostatek kobalaminu v organismu se projevuje megaloblastickou anémií, neurologickými poruchami, methylmalonovou acidurií a hyperhomocysteinémií. Syndrom byl zaznamenán u několika plemen. Příčinná mutace se vždy nachází buď v genu AMN nebo CUBN. Exprimované proteiny obou genů tvoří podjednotky cubam receptoru, membránového proteinu zprostředkovávajícího transport kobalaminu z lumen střeva do organismu (Owczarek-Lipska et al., 2013).

Měďnatá toxikóza

Porucha metabolismu mědi se vyskytuje u bedlington teriérů. Meď není dostatečně vylučována žlučí, ale je akumulována v hepatocytech. To vede k chronické hepatidě a jaterní cirhóze, případně až selhání jater. Tato autozomálně recesivní porucha je způsobena delecí celého exonu 2 genu COMMD1 (dříve MURR1) na chromozomu 10 (Van de Sluis et al., 2002).

PDP 1 deficit

Deficit fosfatasy aktivující pyruvátdehydrogenasový komplex narušuje proces glykolýzy. Jedinec postižený tímto deficitem je vysoce intolerantní k zátěži a již po pár minutách dochází ke kolapsu organismu. Příčinou je nonsense mutace c.754C>T v PDP1 genu. Toto autozomálně recesivní onemocnění postihuje clumber španěly a sussex španěly (Cameron et al., 2007).

3.3.4.5 Poruchy nervové soustavy

Banderova neonatální ataxie

Tato forma ataxie se vyskytuje v populaci plemene coton de tuléar a dědí se autozomálně recesivně. Problémy s koordinací pohybu jsou patrné ve chvíli, kdy se štěňata začínají učit chodit. Postižení jedinci jsou schopni se plazit, ale při pokusech o chůzi padají do

strany. Dalšími typickými projevy jsou titubace hlavy a intenční třes. Zeng et al. (2011) odhalili ve spojitosti s neonatální ataxií inzerci retrotranspozonu v exonu 8 genu GRM1 kódujícím metabotropní glutamátový receptor mGluR-1. Je možné, že tento receptor hraje roli v procesu učení a paměti.

Cereberální abiotrofie

NCCD (Neonatal cerebellar cortical degeneration) postihuje mozeček. V důsledku degenerace dochází již během několika týdnů po narození štěněte k cerebelární ataxii, ztrátě Purkyňových buněk, degeneraci dendritických procesů a dalším neurologickým defektům. U bíglů byla identifikována mutace c.5855_5862del v genu SPTBN2 kódujícím protein potřebný k vývoji Purkyňových buněk (Forman et al., 2012a).

Fenn et al. (2016) uvádí jako příčinu cereberální abiotrofie u maďarských ohařů mutaci c.2653+1G>A v genu SNX14.

NCCD se týká i několika dalších plemen, kauzální mutace však zatím nebyly doposud popsány.

Epilepsie Lafora

Lafora je myoklonickou formou epilepsie s rozvojem v pozdějším věku. Dochází k intracelulárnímu hromadění abnormálního glykogenu. Epileptické záchvaty se začínají objevovat okolo 7 let a kromě svalových záškubů (myoklonů) mohou být doprovázeny různými dalšími pohyby, agresivitou či močením. Vysokou prevalenci mají plemena bígl a trpasličí drsnosrstý jezevčík. Působením mutace se sekvence genu EPM2B (NHLRC1) prodlouží v průměru o více než 200 bp a gen se stává nefunkčním (Swain et al., 2017).

Fukosidóza

U anglických špringršpanělů se vyskytuje lysozomální porucha s autozomálně recesivní dědičností, způsobená nedostatkem α -L-fucosidasy. Deficience daného enzymu vede k neurologickým poruchám a ovlivňuje motorické i mentální funkce. K eutanázii postižených jedinců dochází většinou okolo věku 3 let. Fukosidóza je způsobena 14 bp delecí v exonu 1 genu kódujícím α -L-fucosidasu (Skelly et al., 1996).

Gangliosidóza 1

Příčinou tohoto onemocnění je deficit β -galaktosidasy vedoucí k hromadění gangliosidů v mozku a orgánech, především ledvinách. Deficit vzniká v důsledku mutace c.200G>A

v exonu 2 genu pro β -galaktosidasu a substituce p.Arg60His. Jedná se o další lysozomální strádavé onemocnění s autozomálně recesivní dědičností. Typické je pro plemena portugalský vodní pes, aljašský malamut a shiba-inu (Wang et al., 2000).

Globoidní celulární leukodystrofie

Dalším dědičným strádavým lysozomálním onemocněním psů je globoidní celulární leukodystrofie (Krebbeho nemoc) zapříčiněná deficiencí galaktocerebrosidasy. V důsledku defektní lysozomální hydrolýzy galaktolipidů nacházejících se v myelinu dochází k poškození nervového systému. To se projevuje záchvaty, hypotonií, slepotou a smrtí, konkrétní příznaky se však mohou lišit. Missense mutace c.473A>C v genu pro GALC zodpovídá za nízkou aktivitu enzymu galaktocerebrosidasy a rozvoj nemoci (Wenger et al., 1999).

Nejčastěji postihuje GCL west highland white teriéry a cairn teriéry, může se ale objevit také u biglů, kelpií a irských setrů. Dědičnost defektního genu je autozomálně recesivní.

Juvenilní laryngeální paralýza a polyneuropatie

JLPP je u ruských černých teriérů označována jako polyneuropatie s očními abnormalitami a neuronální vakuolizací (POANV) a u rotvajlerů je známa pod názvem neuronální vakuolizace a spinocerebelární degenerace (NVSD). Dědičnost onemocnění je autozomálně recesivní s nástupem v raném věku. U postižených štěňat dochází k axonální polyneuropatii, mikroftalmii, vzniku katarakt a spongiformní encefalopatie končící smrtí. Spongiformní encefalopatie je charakteristická akumulací vakuol v nervových buňkách, axonech a adrenálních buňkách. Vlivem této akumulace nervový systém postupně degraduje. Kauzální mutací je c.743delC v genu RAB3GAP1 (Mhlanga-Mutangadura et al., 2016).

Juvenilní epilepsie

Epilepsie je nejčastějším neurologickým onemocněním projevujícím se mimo jiné typickými záchvaty způsobenými nadměrnou aktivitou neuronů. Běžně se v závislosti na věku rozlišuje několik forem. U plemene lagotto romagnolo dochází k projevům juvenilní epilepsie mezi 5. a 13. týdnem po narození, poté příznaky většinou odezní. V závažných případech může u štěňat v období mezi záchvaty dojít i k ataxii a hypertermii (Jokinen et al., 2007).

Příčinnou mutací je c.1552 A>T v exonu 8 genu LGI2 vedoucí ke vzniku předčasného stop kodonu. Mutace je plemenně specifická (Seppälä et al., 2011).

L-2-hydroxyglutarová acidurie

Tato neurometabolická porucha s autozomálně recesivní dědičností postihuje stafordšírské bulteriéry. V důsledku dvou bodových mutací (c.1297T>C; c.1299C>T) v exonu 10 genu L2HGDH kódujícím L-2-hydroxyglutarovou dehydrogenasu dochází ke zvýšení koncentrace L-2-hydroxyglutarové kyseliny v mozkomíšním moku, plazmě a moči. Poškození nervové soustavy se projevuje psychomotorickou retardací, záchvaty, ataxií a dalšími neurologickými potížemi (Penderis et al., 2007)

LOA

Spinocerebelární ataxie (Late onset ataxia) postihuje plemena jack russell teriér a parson russell teriér. Klinické příznaky začínají být patrné ve věku 6–12 měsíců, a to především na pánevních končetinách. Dospívající pes není schopen udržet stabilitu a koordinovat svůj pohyb. Stupeň postižení je progresivní, nakonec dochází k utracení. LOA je způsobena missense mutací c.344G>A v genu CAPN1 a dědí se autozomálně recesivně (Forman et al., 2013).

Lysozomální strádavé onemocnění u lagotto romagnolo

Nejčastějšími projevy této neurodegenerativní poruchy jsou progresivní cerebelární ataxie, epizodický nystagmus a behaviorální změny. Zásadní roli ve vzniku onemocnění hraje gen ATG4D na chromozomu 20 kódující cysteinovou proteasu, která je součástí procesu makroautofagie. Vlivem missense mutace c.1288G>A v genu ATG4D je mechanismus makroautofagie narušen, dochází k neuronální cytoplazmické vakuolizaci a shlukování vakuol v sekreční epitelové tkáni a mezenchymálních kmenových buňkách (Kyöstilä et al., 2015).

MDR defekt

MDR defekt je predispozicí k fatální neurotoxikóze, pokud dojde k podání ivermektinu do organismu. Pozměněný produkt genu není schopen plnit svou funkci a dochází ke koncentraci léčiv v oblasti centrální nervové soustavy. Klinickými příznaky jsou třes, slinění, deprese, myadriáza, ataxie, otupělost a kóma. Vyvolat záchvat může už 1/100 až 1/200 standardní dávky (Gagliardi et al., 2015).

Postižení jedinci jsou homozygotní nositelé frameshift mutace c.227_230del v genu MDR-1. V důsledku mutace je kódovaný P-glykoprotein zkrácen z 1281 aminokyselin v polypeptidovém řetězci na 91. Heterozygoti jsou přenašeči bez fenotypových projevů, z čehož lze usoudit, že se na toto onemocnění vztahuje autozomálně recesivní dědičnost (Mealey et al., 2001).

MDR-1 (Multidrug resistance 1 gen) patří do skupiny ABC transportérů. Nachází se na chromozomu 14 a někdy je nazýván také ABCB1. Gen kóduje P-glykoprotein, který hraje zásadní roli ve farmakokinetice (absorpci, distribuci a eliminaci) a farmakodynamice řady léčiv, toxinů, xenobiotik a dalších látek (Martinez et al., 2008).

P-glykoprotein je efluxní transmembránová pumpa umožňující extracelulární transport substrátů za využití energie uvolněné při hydrolýze ATP v ATPázovém místě proteinu. Zkrácením proteinu dochází k znemožnění vytvoření vazebného místa pro ATP a P-glykoprotein tak kompletně ztrácí funkci. Aby P-gp mohl úspěšně plnit svou funkci, musí být exprimován v několika místech. V endoteliálních buňkách krevních kapilár v místě hematoencefalické bariéry, kde brání vstupu xenobiotik do centrální nervové soustavy, v enterocytech, které brání vstřebání toxinů ze střeva dále do organismu, a v hepatocytech, epitelových buňkách žlučových kanálků a proximálním tubulu nefronu, kde plní funkci eliminační (Pechandová et al., 2006). Nedostatečná exprese P-glykoproteinu nebo exprese nefunkční formy v endoteliálních buňkách krevních kapilár negativně ovlivňuje celistvost hematoencefalické bariéry a představuje velké zdravotní riziko.

Největší nebezpečí u postižených psů představuje skupina látek makrocyclických laktonů – avermektinů a milbemycinů. Obě látky jsou produktem půdní bakterie rodu *Streptomyces*. Mezi avermektiny spadají komerčně dostupné pesticidy ivermektin, abamektin, doramektin, eprinomektin a selamektin. Ivermektin se využívá především ve veterinární medicíně jako antihelmentikum (Mealey, 2006).

Doposud byl výskyt mutace potvrzen u několika plemen. Frekvence mutované alely v populacích těchto plemen na území Evropy dle Firdova et al. (2016) je následující:

- Krátkosrstá kolie 58,5%
- Dlouhosrstá kolie 48,3%
- Australský ovčák 35%
- Sheltie 30,3%
- Hedvábný chrt 28,1%
- Miniaturní americký ovčák 26,1%
- Dlouhosrstý vipet 24,3%
- Bílý švýcarský ovčák 16,2%
- Border kolie 0%

Gagliardi et al. (2015) uvádí jako další možný faktor mající vliv na hypersenzitivitu na některé léčivé látky SNP v genech CYP1A2 (CFA 30) a CYP2B11 (CFA 1). Oba geny kódují proteiny, které jsou součástí enzymatické skupiny cytochrom P450. Patří sem hemoproteinové enzymy nesoucí prostetickou skupinu. Oba enzymy se podílí na oxidačním metabolismu léčiv a endogenních sloučenin. Farmakokinetika substrátů daných enzymů je pravděpodobně ovlivněna 10 konkrétními polymorfismy, 9 SNP v genu CYP1A2 a 1 SNP v genu CYP2B11.

V poslední době je MDR defektu věnována velká pozornost, proto se výrobci odčervovacích prostředků pro psy vyhýbají ivermektinu. Existuje však stále riziko, že pes přijde s látkou do styku kontaktem s jinými druhy zvířat.

Myoklonická epilepsie

Jedná se o fotosenzitivní formu epilepsie vyskytující se v populaci rhodéských ridgebacků. Záchvaty začínají ve věku 6 měsíců. Příčinou myoklonické epilepsie je recesivní 4 bp delece (c.564_567del) v DIRAS1 genu kódujícím DIRAS1 GTPasu. K expresi dochází v mozku. Předpokládá se, že se podílí na vývoji nervového systému a funguje jako regulátor uvolňování acetylcholinu. Působením mutace je pozměněna exprese genu a výsledný protein je defektní (Wielaender et al., 2017).

Neonatální encefalopatie

Neonatální encefalopatie je autozomálně recesivní neurologické onemocnění postihující střední pudly v neonatálním stádiu. Štěňata jsou již po narození velmi slabá a většinou do jednoho týdne umírají. U přeživších se vyvíjí ataxie a celotělový třes, od 4. týdne se tělo dostává do generalizovaných tonicko-klonických křečí. Štěňata nežijí déle než 7 týdnů. Choroba je způsobena mutací c.152T>G v exonu 3 genu ATF-2 (Chen et al., 2008).

Neuroaxonální dystrofie

NAD se sporadicky vyskytuje u papillonů po celém světě. Charakteristickým projevem této autozomálně recesivní nemoci je těžký otok axonů převážně v centrální a výjimečně v periferní nervové soustavě. Symptomy jsou individuální, zahrnují různé neurologické poruchy od slepoty po parézu končetin. Tsuboi et al. (2017) identifikovali kauzální mutaci c.1579G>A v exonu 10 genu PLA2G6.

Neuronální ceroidní lipofuscinóza

NCL je heterogenní skupina lyzozomálních střeďavých onemocnění lidí i psů. U postižených jedinců nesoucích defektní gen v homozygotní sestavě dochází k akumulaci ceroidního lipofuscinu v neuronech, buňkách sítnice, kůže a dalších. Nahromaděný ceroidní lipofuscin v nervových buňkách vede k poruchám funkce a buněčné smrti (Karli et al., 2014).

Klinické příznaky se většinou začínají vyvíjet v raném věku. Mezi typické projevy patří progresivní zhoršení kognitivních a motorických schopností, ztráta zraku, záchvaty, problémy s dýcháním a polykáním. Onemocnění končí předčasnou smrtí. Doposud byla NCL zaznamenána u 20 plemen psů, odhalení všech příčinných mutací je však stále předmětem výzkumu (Katz et al., 2017).

Aktuálně lze přítomnost mutace vyvolávající NCL testovat u plemen border kolie, australský honácký pes, australský ovčák, anglický setr, saluki, americký buldok, tibetský teriér, americký stafordšírský teriér a americký pitbullteriér.

Polyneuropatie u aljašských malamutů

AMPn je autozomálně recesivní dědičné onemocnění s rozvojem v raném věku. Z počátku se projevuje paraparézou, v pozdějším stádiu tetraparézou. Dalšími příznaky jsou paréza hrtanu, svalová atrofie, snížená posturální reaktivita a míšní reflexy. Choroba vzniká v důsledku bodové mutace c.293G>T v exonu 4 NDRG1 genu a dochází k substituci p.Gly98Val (Bruun et al., 2013).

Polyneuropatie u greyhoundů

Stejně jako u aljašských malamutů, i v případě greyhoundů nastupují příznaky polyneuropatie v raném věku a stupňují se. Delece 10 bp (c.1080_1089del) v exonu 15 genu NDRG1 se týká výstavní linie plemene a pochází pravděpodobně od jednoho jediného předka. Dědí se autozomálně recesivně. Lidským ekvivalentem polyneuropatie psů je choroba Charcot-Marie-Tooth (Drögemüller et al., 2010).

Spinocerebelární ataxie u russell teriérů

Na rozdíl od LOA se tato forma spinocerebelární ataxie začíná projevovat v dřívějším věku, a to již od 2 měsíců. Je doprovázena myokymii, záchvaty a dalšími neurologickými poruchami. Onemocnění je způsobeno missense mutací c.627C>G v genu KCNJ10, který kóduje usměrňovací draslíkový kanál (Gilliam et al., 2014).

Spongiózní cerebelární degenerace s cerebelární ataxií

Toto onemocnění s autozomálně recesivní dědičností postihuje belgické ovčáky. Vyskytuje se ve dvou formách. První příznaky se objevují mezi 4. a 6. týdnem věku štěněte.

Za SDCA1 je zodpovědná mutace c.986T>C v genu KCNJ10 u belgických ovčáků malinois. Jedná se o stejný gen kódující usměrňovací draslíkový kanál, jako v případě spinocerebelární ataxie u rassel teriérů. Symptomy jsou identické (Van Poucke et al., 2017).

Rozvoj SDCA2 je podmíněn SINE inzercí c.130_131ins227 v genu ATP1B2 kódujícím β_2 podjednotku sodno-draselné pumpy (Na^+/K^+ ATPasy). Onemocnění se projevuje typickými příznaky pro cerebelární dysfunkci, především ataxickou chůzí (Mauri et al., 2017).

3.3.4.6 Poruchy oběhové soustavy

Deficit faktoru VII

V případě poranění je faktor VII aktivován faktorem III (tkáňovým faktorem), stává se součástí hemokoagulační kaskády a podílí se na tvorbě trombu. Deficit hemokoagulačního faktoru VII vyvolává krvácivé onemocnění s autozomálně recesivní dědičností. Pro postižené jedince jsou rizikové komplikované porody, otevřené rány a operace.

Callan et al. (2006) odhalili kauzální mutaci c.6385G>A v EGF-2 doméně u bíglů. Stejná mutace v genu FVII vyvolává toto srážlivé onemocnění u plemen airedale teriér, bígl, deerhound a velký knírač.

PK deficit

Specifická pyruvátkinasa typu R je exprimována v erytrocytech a je zásadním regulačním enzymem anaerobní glykolýzy dávající vzniku ATP. Deficit zmíněné pyruvátkinasy vede k lýze erytrocytů a následně anémii, hemosideróze, sekundární hemochromatóze a osteoskleróze. Onemocnění se vyskytuje u labradorských retrievrů, mopsů, bíglů, cairn teriérů, west highland white teriérů a basenji (Gultekin et al., 2012).

Trombopatie

Příčinou krvácivého onemocnění trombopatie je dysfunkce trombocytů zapříčiněná mutacemi v genu CalDAG-GEFI. Tento gen kóduje stejnojmenný faktor aktivující Rap1b protein uvnitř trombocytů. Snížená exprese tohoto proteinu negativně ovlivňuje shlukování trombocytů. Trombopatie postihuje basety, landseery a plemena špiců. Pro každé plemeno je

charakteristická specifická mutace. Typickými projevy jsou epistaxe, krvácení dásní a petechie (Boudreaux et al., 2007).

von Willebrandova choroba

Von Willenbrandův faktor je plazmatický glykoprotein, jehož funkcí je interakce s některými koagulačními faktory a umožnění agregace a adheze trombocytů. Mutace v genu kódujícím von Willebrandův faktor vede ke vzniku krvácivého onemocnění. Dle závažnosti se choroba dělí na tři typy. Dědičnost všech tří typů choroby je autozomálně recesivní.

Typ I, klasifikovaný jako kvantitativní deficit, je nejčastější a nejméně závažný. V exonu 43 genu pro VWF dochází k mutaci c.7437G>A, alternativnímu sestřihu a zkrácení výsledného proteinu. Tato forma se týká dobrmanů, pudlů, zlatých retrieverů a mnohých dalších plemen (Gentilini et Turba, 2013).

Typ II je charakteristický deficitem multimerů o vysoké molekulové hmotnosti a neúměrnou redukcí aktivity VWF oproti jeho koncentraci (Gavazza et al., 2012).

Vos-Loohuis et al. (2017) uvádí jako primární kandidátní kauzální mutaci c.1657T>G s dodatkem, že zde existuje možnost interakce se sekundární mutací c.4937A>G. Tato forma se vztahuje na německé ohaře drátosrsté a německé ohaře krátkosrsté.

Typ III byl poprvé popsán u nizozemského plemene kooikerhondje. Tato forma se projevuje rozsáhlým krvácením. Postiženým jedincům chybí v plazmě von Willebrandův faktor, případně je detekovatelné jen stopové množství (Gavazza et al., 2012). Mezi další plemena mající sklony k tomuto onemocnění patří sheltie a skotský teriér.

3.3.4.7 Poruchy pohybové a opěrné soustavy

Centronukleární myopatie

CNM způsobena defektním vývojem svalových vláken u labradorských retrieverů po celém světě. Toto autozomálně recesivní onemocnění se projevuje hypotonií, svalovou slabostí, strnulým postojem a chůzí, sníženou tolerancí zátěže a zvýšeným rizikem kolapsu v případě, že je postižený jedinec vystaven chladu. Příčinnou je SINE inzerce v exonu 2 genu PTPLA (Pelé et al., 2005).

Craniomandibulární osteopatie

Hytönen et al. (2016) odhalili mutaci c.1332C>T v genu SLC37A2, který kóduje glukosa-6-fosfát transportér (G6FT) nezbytný pro metabolismus sacharidů. Narušená

homeostáza glukosy v osteoklastech vede ke změnám jejich funkce a poté k rozvoji hyperostózy. Toto autozomálně recesivní onemocnění se vyskytuje u cairn teriérů, west highland white teriérů a skotských teriérů.

Degenerativní myelopatie

Jedná se o neurodegenerativní onemocnění. První klinické příznaky většinou nastupují okolo 8. roku a patří mezi ně proprioceptivní ataxie a paréza pánevních končetin. Již v této fázi začíná docházet k degradaci axonů, demyelinizaci a ztrátě nervových vláken. Většina chovatelů se uchýlí k eutanázii psa krátce po nástupu paraplegie. Pokud zvíře není uspáno, nervová degenerace postupuje ventrálně do zbytku těla. Dochází k paréze hrudních končetin, kvadruplegii, atrofii svalů a dysfagii. DM lze přirovnat k amyotrofické laterální skleróze (ALS) vyskytující se u lidí (Awano et al., 2009).

Na míše vznikají rozsáhlé histopatologické nálezy. Definitivní diagnózu lze určit jen postmortálně skrze histopatologické vyšetření degenerace axonů a myelinu. Nejčastěji je poškozená dorsální oblast míchy (Zeng et al., 2014).

Původcem degenerativní myelopatie jsou dvě missense mutace v genu SOD1 (Superoxid dismutasa 1) na chromozomu 31. První je c.118G>A a substituce p.Glu40Lys v exonu 2. Druhou je c.52A>T a substituce p.Ser18Thr v exonu 1 vyskytující se u bernských salašnických psů.

Pro DM platí autozomálně recesivní dědičnost. Vzhledem k tomu, že se onemocnění neprojeví u všech recesivních homozygotů, jedná se o znak s neúplnou penetrací (Awano et al., 2009).

Frekvence alely 118A v rámci celého druhu napříč plemeny je odhadována v průměru na 37 %. Frekvence alely 52T je odhadována v populaci bernských salašnických psů na 3,5 % (Zeng et al., 2014).

Obě alely – 118A i 52T – se velmi zřídka vyskytují současně v jednom haplotypu. Takový jedinec je přenašeč obou mutací a označuje se jako složený heterozygot. Je možné, že složená heterozygozita představuje stejné riziko v souvislosti s DM jako homozygotní mutace c.118G>A. Z tohoto důvodu je vhodnější vyhýbat se párování jedinců, z nichž by mohli vzniknout heterozygotní potomci v obou mutacích (Pfahler et al., 2014).

Kobatake et al. (2017) se podařilo navrhnout speciální antigen 16G9 reagující s SOD1 proteinem vyprodukovaným mutovanou alelou 118A za cílem sledování distribuce SOD1 proteinu v nervovém systému. V míše heterozygotů A/G byla pozorována degradace bílé hmoty, avšak v menším měřítku než u homozygotů. Vyšší hodnoty SOD1 proteinu naměřili

především v astrocytech, neurony byly téměř bez stop proteinu. Heterozygoti jsou většinou asymptomatictí, přesto má toxický protein SOD1 s největší pravděpodobností vliv na stav jejich nervové tkáně. Takovýto stav může představovat subklinické stádium nemoci. Mícha homozygotů A/A obsahovala vysoké hodnoty SOD1 proteinu v astrocytech i neuronech. Všichni symptomatictí homozygoti projevovali degenerativní změny v závažnější míře, včetně demyelinizace a ztráty axonů v bílé hmotě.

Doposud nebyl zaznamenán případ výskytu obou mutací v homozygotní sestavě v genotypu jednoho jedince (Zeng et al., 2014)

Degenerativní myelopatie se týká desítek plemen, od teriérů po ovčácké psy. Frekvence mutované alely je značně rozdílná nejen mezi plemeny, ale i v rámci FCI skupin. Například Moore et al. (2001) uvádí, že německý ovčák má skoro dvakrát vyšší riziko úhynu v důsledku onemocnění páteře než belgický ovčák. Právě německý ovčák je nejčastěji spojovaným plemenem s DM.

Dědičná myopatie u německých dog

Böhm et al. (2013) identifikovali jako příčinu tohoto autozomálně recesivního onemocnění postihujícího svaly mutaci IVS10-1G>A v akceptorovém místě sestřihu exonu 11 genu BIN1. Vlivem mutace daný exon v transkribované RNA úplně chybí, čímž se mění funkce kódovaného proteinu amphiphysinu 2. Mezi klinické příznaky patří především svalová slabost a atrofie. Choroba se začíná projevovat ve věku okolo 10 měsíců a z důvodu rychlé progresy je většina postižených do 18. měsíce utracena.

Dwarfismus (skeletální dysplazie 2)

U labradorských retrieverů se vyskytuje disproporcionální dwarfismus ovlivňující jen délku končetin, nikoliv dalších částí těla. Skeletální dysplazie 2 není spojena s žádnými sekundárními zdravotními komplikacemi. Toto autozomálně recesivní onemocnění je způsobeno mutací c.143G>C v genu COL11A2. Vliv na funkci kódovaného kolagenu XI je zřejmě minimální, což vysvětluje poměrně mírný fenotypový projev (Frischknecht et al., 2013).

Chondrodysplazie

Autozomálně recesivní chondrodysplazie postihuje karelské medvědí psy a norské losí psy. Mutace c.2083C>T v exonu 16 genu ITGA10 vede k nedostatečné expresi α 10 proteinu podílejícího se na endochondrální osifikaci. Postižení jedinci jsou malého vzrůstu z důvodu narušeného vývoje chrupavek a kostí (Kyöstilä et al., 2013).

Kongenitální myotonie

Tato autozomálně recesivní choroba postihuje malé knírače. Substituce p.Thr268Met v genu pro CIC-1 chloridový kanál vede k opožděné relaxaci kosterní svaloviny (Rhodes et al., 1999).

Maligní hypertermie

Maligní hypertermie je farmakogenetické skeletomuskulární onemocnění vyvolané aplikací sukcinylcholinu (muskulárních relaxantů) nebo inhalačních anestetik. Pokud organismus přijde do styku s některou z látek, dochází k hyperkapnii, tachykardii, hypertermii, rhabdomyolýze, arytmií, křečím kosterních svalů a selhání ledvin. Kauzální mutací je substituce c.1640T>C v RYR-1 genu kódujícím ryanodinový receptor, vápníkový kanál v sarkoplastickém retikulu. Dědičnost maligní hypertermie je autozomálně dominantní (Roberts et al., 2001).

Muskulární dystrofie u landseerů

Tento typ muskulární dystrofie je zapříčiněn nonsense mutací c.289G>T v exonu 3 genu COL6A1, jehož produktem je alfa-1 řetězec kolagenu typu VI. Postižení jedinci mají v postoji propadlý hřbet a pánevní končetiny umístěny v úrovni břicha. Dalším typickým projevem jsou problémy s chůzí, kdy štěně po pár krocích padá na zem. Onemocnění se začíná projevovat v raném věku a postupuje velmi rychle. Mezi 5. a 15. měsícem věku štěněte majitelé většinou volí eutanázii. Jedná se o chorobu s autozomálně recesivní dědičností (Steffen et al., 2015).

Muskulární dystrofie u zlatých retrieverů

Ekvivalentem tohoto onemocnění u lidí je Duchennova muskulární dystrofie. U zlatých retrieverů je svalová dystrofie vyvolána nedostatečnou expresí dystrofinu ve svalech a neuronech v důsledku mutace v DND genu na chromozomu X. Typickými příznaky jsou dyspnoe, dysfagie, svalová slabost a diarea (De Lima et al., 2007).

Musladin-Lueke syndrom

MLS je charakteristický rozsáhlou fibrózou kůže a kloubů v důsledku poškození proteinu fibrilinu-1, který je hlavní součástí tkáňových mikrofibril. Postihuje bigly s mutací c.660C>T v exonu 7 genu ADAMTSL2. Syndrom se projevuje chůzí na ztuhlých vzprímených končetinách, výskytem ztlustělé kůže, krátkých prstů, široké lebky a široce posazených očí.

Stav se většinou stabilizuje okolo 1 roku s výjimkou artrózy. Dědičnost tohoto syndromu je autozomálně recesivní (Bader et al., 2010).

Mutace myostatínu

Mosher et al. (2007) odhalili 2 bp delecii v genu MSTN kódujícím myostatin, který reguluje množství a složení svalových vláken. Delece je v homozygotní sestavě u plemene whippet zodpovědná za dvojité osvalení, tzv. bully fenotyp. Tento znak je děděn autozomálně recesivně. Heterozygotní sestava se ve fenotypu projevuje středním stupněm osvalení. Tito jedinci jsou chovateli preferováni do role závodních psů, protože jim vyšší míra osvalení poskytuje výhodu v rychlostním výkonu.

Raine syndrom

Dentální hypomineralizace, neboli Raine syndrom, je specifická pro plemeno border kolie. Hypomineralizace se projevuje progresivním opotřebením zubů vedoucím k pulpidě a následně extrakci. Kauzální mutace c.899C>T v genu FAM20 má za následek deficit stejnojmenného proteinu, jenž se pravděpodobně podílí na diferenciaci a mineralizaci odontoblastů, ameloblastů, osteoblastů a osteocytů. Jedná se o chorobu s autozomálně recesivní dědičností (Hytönen et al., 2016).

van den Ende-Gupta syndrom

Závažné anomálie skeletu drsnosrstých foxteriérů, nesoucí název syndrom van Ende-Gupta, jsou způsobeny mutací c.865_866del v SCARF2 genu. Nejčastěji se vyskytujícími skeletárními anomáliemi jsou mandibulární progenie, luxace patelly, luxace loketního kloubu a anomálie nosní přepážky. Dalším častým nálezem jsou nemineralizovaná či nedostatečně mineralizovaná sekundární osifikační centra. Syndrom je dědičný autozomálně recesivně (Hytönen et al., 2016).

3.3.4.8 Poruchy smyslové soustavy – zraku

Achromatopsie

Příčinou achromatopsie, autozomálně recesivně dědičné barvosleposti, je degenerace čípků. Vyskytuje se u několika plemen. Důvodem vzniku onemocnění je rozsáhlá 404 820 bp delece chromozomu 29, včetně genu CNGB3, který u čípků kóduje β -podjednotku kanálů řízených cyklickými nukleotidy (Yeh et al., 2013).

Anomálie oka kolii

Tento defekt sítnice je znám spíše pod názvem CEA, Collie eye anomaly. Klinickými příznaky u postižených jedinců je zvlnění cév sítnice, hypoplazie cévnatky, depigmentované skvrny na sítnici, tvorba záhybů, uvolnění sítnice a vnitřní krvácení v očích. První projevy jsou u některých štěňat pozorovatelné už během prvních dvou týdnů po narození. Poškození se postupem času stupňuje a v důsledku uvolnění sítnice nebo krvácení může dojít až k slepotě. Léze jsou v naprosté většině bilaterální a asymetrické, ale vzácně se vyskytují výjimky (Dostál, 2007).

Příčinou je velká delece 7,8 kb v intronu 4 genu NHEJ1 (Non-homologous end-joining factor 1) na chromozomu 37. Důležitou částí se zdá být především konkrétní 124 bp segment. Tento segment DNA je vysoce konzervován v genomu všech doposud studovaných druhů savců a zahrnuje vazebná místa pro mnoho regulačních proteinů. Přesná příčina CEA není ještě úplně známa, je ale možné, že narušení interakcí těchto proteinů s vazebnými místy segmentu má za následek vznik CEA fenotypu. Kandidátními geny, které jsou danou interakcí regulovány, jsou NHEJ nebo IHH (Parker et al., 2007).

IHH patří do rodiny morfogenů regulujících proliferaci buněk, diferenciaci a mezibuněčnou komunikaci během embryonálního vývoje. Změna exprese tohoto genu by odpovídala vzniku defektu sítnice (Parker et al., 2007).

Gen NHEJ1 má důležitou roli v mechanismu přímé opravy dvouvláknových zlomů DNA. Tato chromozomová aberace je následkem působení mutagenů v podobě ionizujícího záření, UV záření, teplotních šoků, chemických látek, volných radikálů a dalších. Zlomy mohou být opraveny nehomologním spojením konců vláken DNA nebo homologní rekombinací.

V procesu přímé opravy jsou na sebe zpět napojeny řetězce bez potřeby homologního vlákna DNA. Mechanismus působící ve spojitosti s NHEJ1 značně přispívá ke stabilitě DNA molekuly. Jeho primární funkcí je oprava dvouvláknových zlomů v genech pro tvorbu imunoglobulinů a receptorů pro T-lymfocyty (O'Driscoll, 2012).

CEA je autozomálně recesivní onemocnění s téměř 100 % penetrací. Ačkoliv jsou příznaky individuální, defekt se téměř vždy projeví. U některých heterozygotů dochází k částečné penetraci (Lowe et al., 2003).

U štěňat je možné kromě genetické analýzy určit diagnózu také na základě oftalmoskopického vyšetření. Okolo 3 měsíců se však mění barva fundu v oftalmoskopu ze štěněčí světle modré na typickou žlutou v důsledku změny pigmentace sítnice. Může tak dojít

k přehlídnutí již existujících lehkých defektů. Z tohoto důvodu je přesnější diagnóza stanovená v raném věku (Bedford, 1982).

Mezi plemena mající předpoklad pro CEA patří australský ovčák, border kolie, dlouhosrstá kolie, krátkosrstá kolie, nova scotia duck tolling retriever, sheltie, hokkaido, lancashire heeler a FCI neuznané plemeno dlouhosrstý vipet.

Hereditární katarakta

Jednou z nejčastějších příčin slepoty psů i lidí je katarakta (šedý zákal). Vyskytuje se u desítek plemen, avšak detekce se provádí jen u bostonských teriérů, francouzských buldočků a stafordšírských bulteriérů. V populacích těchto plemen se vyskytuje forma s autozomálně recesivní dědičností způsobená delecí jednoho C nukleotidu v exonu 9 genu HSF4. Dále jsou vyvinuty genetické testy pro australské ovčáky s autozomálně dominantní formou, která vzniká v důsledku stejné mutace. Průběh onemocnění je závislý na konkrétním plemeni, oči jsou ale vždy postiženy bilaterálně (Mellersh et al., 2006).

Kongenitální stacionární noční slepota

Aguirre et al. (1998) identifikovali v exonu 5 genu RPE65 4 bp delecí způsobující kongenitální stacionární noční slepotu u briardů. Poškození zraku se týká primárně nočního vidění, mohou se však vyskytnout i problémy s denním viděním. U mladých zvířat se v některých případech objevuje nystagmus, který postupem času mizí.

Multifokální retinopatie

K rozvoji tohoto autozomálně recesivního onemocnění dochází u štěňat okolo 4. měsíce od narození. U takovýchto jedinců jsou oftalmoskopem pozorovatelné v multifokálních oblastech retinální elevace s obsahem narůžovělé subretinální serózní tekutiny. Ke ztrátě zraku dochází až v pokročilém věku. První forma nesoucí název **CMR1** je zapříčiněna nonsense mutací c.73C>T v genu VMD2 kódujícím bestrofin. Postihuje plemena pyrenejský horský pes, anglický mastiff, bulmastiff, cane corso, bordeauxská doga, anglický buldog, americký buldog, kanárská doga a australský ovčák. Druhá forma **CMR2** je u plemene coton de tuléar způsobena missense mutací c.482G>A ve stejném genu (Guziewicz et al., 2007).

Primární glaukom

Jedná se o heterogenní skupinu nemocí způsobujících slepotu v důsledku ztráty sítnicových gangliových buněk a poškození zrakového nervu. Primární (dědičné) glaukomy se

vyskytují ve třech formách – s otevřeným úhlem (POAG), s uzavřeným úhlem (PACG) a kongenitální glaukom (PCG). Ačkoliv jsou příznaky velmi rozmanité, glaukomy jsou vždy doprovázeny zvýšeným nitroočním tlakem (Bouhenni et al., 2012).

U bíglů vede k rozvoji POAG, což je nejčastější typ glaukomu, mutace c.1981G>A v genu ADAMTS10 (Kuchtey et al., 2013).

Primární luxace čočky

Mutace G>A v donorovém místě sestřihu genu ADAMTS17 vede k poškození závěsného aparátu čočky a slepotě v pozdějším věku. Není jisté, zda defekty ve struktuře vláken vznikají prenatalně či postnatalně. Dědičná PLL postihuje mnoho plemen, avšak příčinná mutace byla doposud odhalena jen u některých. Dědí se autozomálně recesivně. Zvýšené riziko rozvoje nemoci mají pravděpodobně i heterozygoti (Farias et al., 2010).

Prograsivní retinální atrofie

PRA je souhrnný název pro dědičné dystrofie sítnice. Dochází ke zrakovému postižení kvůli degeneraci fotoreceptorů v sítnici a většinou končí slepotou. Týká se více než 100 plemen, příčinná mutace však dosud nebyla u některých identifikována. PRA může být geneticky heterogenní i uvnitř plemene (Wiik et al., 2015).

V závislosti na konkrétní formě se choroba dědí autozomálně recesivně, autozomálně dominantně nebo je vázána na chromozom X.

Prvním projevem onemocnění je nedostatečné noční vidění, noční slepota. Postupně pes přichází i o denní vidění. V tomto stadiu je při vyšetření oftalmoskopem pozorovatelná šedá granulární struktura tapetálního fundu a zeslabení retinálních arteriol. Ve finálním stadiu dochází k atrofii optického disku neboli slepé skvrny, místa vstupu zrakového nervu, které neobsahuje žádné fotoreceptory. Časem může docházet ke kataraktám. Postižení a vývoj je na rozdíl od CEA bilaterální (Dostál, 2007).

PRA Rcd1

První popsaná forma retinální atrofie je recesivní a týká se irských setrů a irských červenobílých setrů.

Degenerativní proces tyčinek začíná okolo 25. dne od narození a vrcholí ve stáří 1 roku, kdy je zdecimovaná populace tyčinek i čípků (Suber et al., 1993).

Rod-cone dysplasia 1 je způsobena abnormálním metabolismem cGMP vedoucím k defektní diferenciaci fotoreceptorů. Výrazně zvýšené hodnoty retinálního cGMP jsou

způsobeny sníženou expresí cGMP fosfodiestrasy (PDE). Enzym obsahuje tři podjednotky – α , β , γ . V tomto případě se jedná o sníženou expresi podjednotky β (Farber et al., 1992).

Suber et al. (1993) našli nonsense mutaci c.807G>A v exonu 21 β podjednotky cGMP fosfodiestrasy dávající vzniku předčasnému amber stop kodonu UAG. β podjednotka je mutací zkrácena o 49 aminokyselinových zbytků a přichází o C-terminální doménu, která je potřebná k posttranslačním úpravám a asociaci k membráně.

Experimentálně bylo prokázáno, že genová terapie AAV2/5 RK.cpde6 β v raném věku předchází rozvoji degenerace fotoreceptorů a to nejméně na 3,5 roku. AAV2/5 RK.cpde6 β je aplikován subretinálně a dokáže zastavit degenerativní proces i v pokročilejším stadiu (Pichard et al., 2016).

PRA Rcd1a

Tato forma je charakteristická pro plemeno chrtů sloughi. Onemocnění nastupuje v raném věku a dědí se autozomálně recesivně, stejně jako rcd1. Příčinná mutace c.816_817insTGAAGTCC se také nachází v exonu 21 genu cGMP PDE β a má za následek vznik předčasného stop kodonu, čímž se výsledný protein zkracuje o 40 aminokyselin. Proteiny obou forem rcd1 přichází o C-terminální doménu potřebnou k posttranslačním úpravám a asociaci k membráně (Dekomien et al., 2000).

PRA Rcd2

Druhá forma Rod-cone dyspazie se podobá lidské retinis pigmentosa a vyskytuje se mezi kolyiemi dlouhosrstými i krátkosrstými. Opět zde platí autozomálně recesivní dědičnost a degenerace fotoreceptorů nastává v raném věku.

Kukekova et al. (2009) identifikovali v souvislosti s onemocněním v exonu 4 genu RD3 na chromozomu 7 inzerci 22 bp způsobující frameshift. Frameshift vede k alteraci posledních 61 kodonů a prodloužení čtecího rámce za hranici běžně se vyskytujícího stop kodonu. Na rozdíl od lidského a myšího RD3, které mají vždy jeden transkript, byly u psů detekovány tři sestřihové varianty. Mutace se týká jedné z těchto tří variant.

PRA u sheltí se věnovali norští vědci Wiik et al. (2015), prokázalo se však, že příčinnou mutací v populaci tohoto plemene není inzerce a frameshift RD3, jako je tomu u kolyí. Doposud jedinou odhalenou mutací v populaci sheltí je 4 bp delece (c.1752_1755del) v exonu 9, frameshift v kodonu 584 a předčasný stop kodon v genu CNGA1 (Cyclic nucleotide gated channel alpha 1) na chromozomu 13. Dochází k delecí 107 aminokyselin z celkového počtu 691 z C-terminálního konce proteinu CNGA1 a jejich náhradě 8 novými aminokyselinami.

Výsledný protein je pravděpodobně nefunkční. Fakt, že mutace v CNGA1 byla přítomna u postižených sheltíí pocházejících z jedné velké rodiny, nikoliv však u všech nepříbuzných testovaných jedinců, poukazuje na genetickou heterogenitu uvnitř plemene.

PRA sheltíí je označována jako Generalizovaná PRA sheltíí, gPRA-Shet apod., není tedy oficiálně řazena mezi rcd2. Testy na přítomnost mutace CNGA1 neposkytuje žádná laboratoř v České Republice. Chovatelé se musí obrátit na zahraniční instituce, například slovenský Slovgen.

PRA Rcd3

Progresivní retinální atrofie welsh corgi cardiganů je opět spojena s cGMP fosfodiesterasou, tentokrát se ale jedná o mutaci v genu kódujícím α podjednotku. Delece c.1939delA v kodonu 616 exonu 15 způsobuje frameshift, předčasný stop kodon v pozici 644 a zkrácení proteinu o 218 aminokyselin. Mutace pravděpodobně pochází od jediného společného předka, výstavního šampiona narozeného ke konci 50. let. Během následujících desetiletí se potomci daného psa rozšířili ze Spojeného království do USA, Austrálie, Nového Zélandu a Nizozemska (Petersen-Jones et al., 1999).

Charakteristická je autozomálně recesivní dědičnost a vývoj v raném věku vedoucí k úplné slepotě mladých dospělých psů.

PRA Rcd4

Downs et al. (2013) identifikovali další mutaci v genomu irských setrů a gordonsetrů. Tentokrát se jedná o inzerci c.3149_3150insC v exonu 1 a frameshift p.Cys1051ValfsX90 v genu C2orf71 na chromozomu 17. Zhruba 10 % gordonsetrů postižených PRA však tuto mutaci nemělo, proto se autoři domnívají, že je onemocnění u tohoto plemene geneticky heterogenní a za jeho rozvoj zodpovídá aspoň jedna další mutace.

Tato forma se liší od předchozích věkem, kdy onemocnění propukne. Klinické příznaky nastoupí většinou mezi 8. a 10. rokem. Dědí se autozomálně recesivně.

Rcd4 souvisí s plemeny australský honácký pes, anglický setr, gordonsetr, irský červenobílý setr, irský setr, malý münsterlandský ohař, polský ovčák nížinný, tibetský teriér, japonský špic, pudl trpasličí a střední.

PRA GR_PRA

PRA zlatých retrievrů je geneticky heterogenní, původcem jsou aspoň 4 mutace. K atrofii fotoreceptorů dochází ve věku 4 až 5 let.

Malé procento PRA se dá zařadit mezi prcd (progressive rod–cone degeneration). Druhou mutací objevenou ve spojitosti se zlatými retrievery je 2601_2602insC v exonu 16 a frameshift p.E868RfsX104 v genu SLC4A3 (Solute carrier anion exchanger) na 37. chromozomu. Jedná se o recesivní formu s úplnou penetrací označovanou jako **GR_PRA1**. Z 80 psů diagnostikovaných s PRA bylo 56 % homozygotních v této mutaci. Alelová frekvence v Evropě je následující: Spojené království 4 %, Švédsko 6 %, Francie 2 %. V populaci zlatých retrievrů na území USA zatím nebyla tato forma genu nalezena (Downs et al., 2011).

Třetí mutací je c.669delA v exonu 8 genu TTC8 na chromozomu 8. Vede pravděpodobně k předčasnému stop kodonu. TTC8 je důvodem vzniku lidského ekvivalentu PRA, retinis pigmentosa. Mutace vysvětluje PRA fenotyp odhadem u 30 % zlatých retrievrů a označuje se jako **GR_PRA2**. Příčina onemocnění 9 % postižených stále zůstává neodhalena (Downs et al., 2014).

PRA Pap_PRA1

Mutací charakteristickou pro plemena papillon a fialové je indel – inzerce a delece – v exonu 25 genu CNGB1 (Cyclic nucleotide gated channel beta 1) na 2. chromozomu. Nejprve dochází k deleci 1 bp a následně inzerci 6 bp (c.2685delA2687_2688insTAGCTA). Defektní alela vede k frameshiftu a předčasnému stop kodonu p.Tyr889SerfsX5. Nakonec je pravděpodobně mRNA nesoucí frameshift mutaci degradována pomocí nonsense mediated mRNA decay (NMD) (Ahonen et al., 2013). Tento mechanismus brání vzniku nefunkčních proteinů

Podle imunohistochemického barvení tkáně mladých psů v pre-degenerativním stadiu provedeného Winkler et al. (2013) se zdá, že výsledný protein přichází mutací o C-terminus. N-terminus byl bez problému označen specifickými protilátkami ve vnějších segmentech tyčinek. Indel v CNGB1 je zodpovědný za 70 % případů PRA plemen papillon a fialové.

Další možnou formou PRA těchto dvou plemen je prcd. Pap_PRA1 je recesivní forma onemocnění s pozdním nástupem mezi 4. a 5. rokem.

PRA u Basenji

Retinální atrofie u plemene basenji nastupuje také v pozdějším věku. Dědí se autozomálně recesivně.

Goldstein et al. (2013) identifikovali příčinnou non-stop mutaci c.1216T>C v SAG (S-antigen) na chromozomu 25. Působením non-stop mutace vzniká místo normálního stop kodonu kód pro arginin. Následně dochází k translaci nadbytečných 25 aminokyselin. Těchto

25 aminokyselin mění izoelektrický bod výsledného proteinu a přidává 4 pozitivně nabitě aminokyselinové zbytky k 52 původním. Není však jisté, zdali je výsledný protein schopen složit se do požadované struktury. Takto narušený protein by pravděpodobně přišel o schopnost navázat se na svůj receptor rhodopsin, což by mohlo vést k fenotypu typickému pro PRA.

PRA Prcd

Progresivní degenerace tyčinek a čípků je formou recesivní. Nikterak nezasahuje do diferenciacie receptorů během prenatalního období, jako tomu je u některých dříve zmíněných variant. Degenerace nastává až po normálním postnatálním vývoji. Tyčinky i čípky degenerují strukturně i funkčně. Prcd forma má tedy pozdější nástup a značně se liší od rcd (Aguirre et Acland, 1988).

Acland et al. (1998) zmapovali prcd lokus porovnáním s lidským lokusem RP17 na 17q zodpovědným za rozvoj retinis pigmentosa. Lokalizován byl v blízkosti centromerického konce chromozomu 9. Zatím však nedošlo k identifikaci konkrétního genu.

To se podařilo až Zangerl et al. (2006), kteří potvrdili lokalizaci PRCD genu na chromozomu 9. Za kauzální mutaci byla označena substituce c.5G>A vedoucí k p.Cys2Tyr. Stejná mutace byla nalezena i u pacienta z Bangladéše s autozomálně recesivní formou retinis pigmentosa.

Prcd je nejrozšířenější formou PRA. Mutace byla zatím potvrzena u těchto plemen: anglický kokršpaněl, americký eskymácký pes, americký kokršpaněl, australský honácký pes, australský honácký pes s krátkým ocasem, australský ovčák, chesapeake bay retriever, čínský chocholatý pes, entlebuchský salašnický pes, jack russel teriér, jagdteriér, karelský medvědí pes, kuvasz, labradorský retriever, lakeland teriér, lapinporokoirra, laponský pes, miniaturní americký ovčák, mops, norský losí pes, norwich teriér, nova scotia duck tolling retriever, parson russel teriér, portugalský vodní pes, sealyham teriér, silky teriér, španělský vodní pes, toy pudl, trpasličí pudl, yorkšírský teriér, zlatý retriever a další.

PRA dominantní

Rhodopsin, receptor spřažený s G-proteinem, je aktivován světlem a spouští transdukční kaskádu umožňující noční vidění pomocí tyčinek. Mutace genu RHO (Rhodopsin) jsou poměrně častou příčinou dominantně dědičné retinální degenerace a slepoty lidí. Velmi podobný fenotyp vykazují psi s dominantní formou PRA. Mezi společné znaky patří výrazně delší doba zotavení světločivných buněk tyčinek po vystavení jasnému světlu a pozorovatelné topografické mapy retinální degenerace. Rozvíjející se příznaky onemocnění lze pozorovat

oftalmoskopicky od 6 měsíců. Nejprve je viditelné ztenčení sítnice. V pokročilejším stadiu atenuace retinálních cév a vyblednutí optického disku. (Kijas et al., 2002).

Autozomálně dominantní dědičnost PRA byla doposud zaznamenána jen u anglických mastifů a bullmastifů. Z hlediska chovu psů se jedná o nebezpečnější formu v porovnání s dříve zmíněnými recesivně dědičnými PRA ostatních plemen. Příčinnou mutací je substituce c.11C>G vedoucí k p.T4R v genu RHO na 20. chromozomu psa (Kijas et al., 2003).

PRA X-linked

PRA vázaná na chromozom X je podobná lidské retinis pigmentosa RP3. Oba druhy onemocnění se váží na stejnou část X chromozomu. Jsou popsány dvě formy XLPRA způsobené odlišnými mutacemi v exonu ORF15 (open reading frame) genu RPGR (Retinitis pigmentosa GTPasový regulátor). Obě varianty byly zmapovány ve stejném lokusu. Kauzální mutací **XLPRA1** je c.1028_1032del vedoucí k frameshiftu a předčasnému stop kodonu. Zkrácení výsledného proteinu o 230 aminokyselin na C-terminálním konci nepatrně snižuje izoelektrický bod. Fenotyp je charakteristický postnatální expresí mutace a degenerací již diferencovaných fotoreceptorů. Z morfologického hlediska zůstávají fotoreceptory nepoškozené až do rané dospělosti. Potom postupně dochází k nepravidelnostem vnějších segmentů tyčinek a následně jejich degeneraci. Čípky degenerují pomaleji. Poměrně velké množství zůstává zachováno i v pokročilejším stadiu onemocnění. Všichni samci s touto formou PRA dospěli do finálního stadia nemoci do 4 let. XLPRA1 se vyskytuje u samojedů a sibiřských husky. **XLPRA2** je způsobena mutací c.1084_1085del. Vzniká frameshift, který zásadně mění polypeptidový řetězec a výrazně zvyšuje izoelektrický bod. Vede k začlenění 34 nových aminokyselinových zbytků a předčasnému stop kodonu během translace. Kódovaný protein se hromadí v endoplazmatickém retikulu transfektovaných buněk. Ve fenotypu se mutace projevuje abnormálním vývojem sítnice a fotoreceptorů, pozorovatelným již ve věku 5 až 6 týdnů. Vnější segmenty jsou vysoce dezorganizované a dezorientované. Stejně jako u předešlé formy tyčinky degenerují rychleji než čípky. Všechna postižená zvířata dospějí do finálního stadia onemocnění do 2 let (Zhang et al., 2002). Test na XLPRA2 aktuálně žádná česká laboratoř nenabízí.

Je možné, že existují další doposud nepopsané formy PRA vázané na chromozom X. Vilboux et al. (2008) se zabývali retinopatií v populaci francouzských pracovních border kolií. Na základě klinických příznaků a oftalmoskopického vyšetření byla desítkám psů diagnostikována PRA. Analýza rodokmenů potvrdila dědičnost vázanou na chromozom X. U

žádného z postižených jedinců se však nevyskytovala ani jedna ze dvou známých variant XLPRA1 a XLPRA2.

Dalším takovým případem je de novo mutace objevená sekvenováním exonů dvou jedinců z jednoho vrhu výmarských ohařů v Německu postižených PRA. Screening dalších 16 psů pocházejících ze společných předků potvrdil nově identifikovanou delecí celých exonů 1 až 4 genu RPGR v hemizygotní nebo heterozygotní sestavě. Mutace nebyla přítomna v genomu 88 nepříbuzných výmarských ohařů (Kropatsch et al., 2016).

Syndrom suchého oka a kudrnaté srsti

Kongenitální keratoconjunctivitis sicca s ichtyosiformní dermatózou (CKCSID) je autozomálně recesivní choroba. Mezi první projevy hned po narození patří výskyt drsné srsti a v období 10-14 dnů, kdy štěňata běžně otevírají oči, syndrom suchého. Během následujících měsíců dochází k hyperkeratinizaci epitelu polštářů a zkroucení drápů. Kauzální 1 bp delece se nachází v exonu 5 genu FAM83H. V důsledku této delece je výsledný polypeptidový řetězec zkrácen z 1151 aminokyselin na 582 (Forman et al., 2012b).

3.3.4.9 Poruchy vylučovací soustavy a kůže

Familiární nefropatie

Jedná se o autozomálně recesivně dědičnou chorobu ledvin doprovázenou proteinurií. Dochází ke ztluštění, rozvláknění a fragmentaci kolagenové glomerulární bazální membrány tvořící stěnu glomerulárních kapilár. Nakonec dochází k selhání ledvin. FN se vyskytuje v populaci anglických kokršpanělů (Lees et al., 1997).

Davidson et al. (2007) objevili kauzální nonsense mutaci c.115A>T v exonu 3 genu COL4A4.

Hyperurikosurie

Missense mutace c.563G>T v genu SLC2A9 způsobuje autozomálně recesivní poruchu transportu kyseliny močové v játrech a proximálních tubulech. U postižených jedinců odbouráváním purinů nevzniká allantoin, ale kyselina močová, jejíž hodnoty v krvi a moči se v důsledku ztráty schopnosti resorpce a nedostatečné glomerulární filtraci značně zvyšují. To může vést k rozvoji dalších závažných onemocnění. Nejčastějším projevem je tvorba močových kamenů (Bannasch et al., 2008).

Onemocnění postihuje mnoho plemen. V populaci dalmatinů se původní divoká alela už vůbec nevyskytuje. Všichni dalmatini jsou tedy postižení hyperurikosurií (Karmi et al., 2010).

Ichtyóza

Ichtyózy tvoří heterogenní skupinu genodermatóz. Typickým příznakem je loupání kůže po celém těle. Loupající se kůže je náchylná k sekundárním bakteriálním a plísňovým infekcím. Grall et al. (2012) se zabývali lamelární ichtyózou zlatých retrievrů, která připomíná lidskou formu. Odhalili indel mutaci nacházející se v exonu 8 genu PLPLA na chromozomu 12 vedoucí k narušení epidermální lipidové bariéry.

Dalšími popsány mutacemi ve spojitosti s ichtyózou jsou LINE-1 inserce v genu TGM1 jack russel teriérů (Credille et al., 2009) a sestřihová mutace v genu KRT10 norfolk teriérů (Credille et al., 2005).

Primární hyperoxalurie typ I

PH je vzácná autozomálně recesivní porucha metabolismu glyoxylátu, charakteristická hromaděním oxalátu primárně v ledvinách, kde následně krystalizuje v podobě oxalátu vápenatého. Příčinou je deficit enzymů alanin-glyoxylát aminotransferasa (AGXT) nebo glyoxylát reduktasa/hydroxypyruvát reduktasa (GRHPR). Na molekulárně genetické úrovni byla doposud popsána jen první varianta a to zásluhou Vidgren et al. (2012), kteří sekvenovali gen AGXT 118 zástupců finské populace plemene coton de tuléar a identifikovali mutaci c.996G>A v exonu 2.

Polycystické onemocnění ledvin

Tato nemoc s autozomálně dominantní dědičností je u anglických bulteriérů způsobena missense mutací c.9772G>A v exonu 29 genu PKD1. Přítomnost mutace vede k bilaterální tvorbě cyst a poté chronickému selhání ledvin (Gharakhani et al., 2011).

3.3.5 Detekce patogenů

Metoda PCR je v laboratořích využívána také k přímé detekci různých patogenů v organismu. Nepřímá detekce patogenů je založena na průkazu specifických protilátek, nevyužívá tedy žádnou z molekulárně genetických metod. Včasná identifikace viru, bakterie či parazita umožňuje aplikaci vhodné léčby.

V některých situacích je vyžadováno, aby pes či fena podstoupili zdravotní vyšetření. Je tomu tak například u psího herpesviru, který může zabránit zabřeznutí feny, vyvolat potrat či nakazit štěňata transplacentárně. Pokud se takto infikovaná štěňata narodí živá, nežijí déle než 10 dnů (Hashimoto et al., 1982). Mnozí chovatelé považují laboratorní potvrzení o zdraví krycího psa či feny již jako samozřejmost.

Tab. 3: Souhrn nejběžněji detekovaných patogenů

Onemocnění	Původce	Odběrový materiál
Babezióza	<i>Babesia canis, Babesia gibsoni</i>	krev
Borelióza	<i>Borrelia burgdorferi</i>	krev, synoviální tekutina, kožní biopsie, mozkomíšní mok
Chlamydiová infekce	<i>Chlamydophila spp.</i>	buňky spojivky
Leishmanióza	<i>Leishmania spp.</i>	kostní dřev, mízní uzliny, kožní biopsie
Leptospiróza	<i>Leptospira</i>	krev, moč
Mykoplazmová infekce	<i>Mycoplasma canis</i>	stěr z pohlavních orgánů
Parvoviróza	<i>Parvovirus canis</i>	krev, trus
Psinka	<i>Virus febris contagiosae canis</i>	krev, sérum, mozkomíšní mok, stěry ze spojivky, nosu nebo nosohltanu
Psí herpesvirus	<i>Herpesvirus canis</i>	krev, stěr z pohlavních orgánů, mandlí
Srdeční červivost	<i>Dirofilaria immitis</i>	krev

4 Závěr

Předkládaná práce je souhrnem dosavadních poznatků ohledně všech molekulárně genetických metod běžně využívaných v chovu psů.

Na začátku práce jsou shrnuta fakta ohledně genomu psa a vysvětleny základní principy molekulárně genetických metod. Hlavní částí této práce je kapitola Praktické využití molekulárně genetických metod. Obsahuje popis 6 základních lokusů determinujících zbarvení, včetně funkcí genů na molekulární úrovni, poznatky ohledně genů ovlivňujících kvalitu (typ) srsti a informace ohledně ověřování rodičovství a příslušných markerech. Nejdelší část tvoří souhrn více než 80 dědičných onemocnění a jejich kauzálních mutací. Dále práce obsahuje zmínku o detekci patogenů

Pes domácí se celosvětově těší stále větší popularitě, proto je výzkum psího genomu čím dál víc atraktivní. Stále přibývá nových poznatků ohledně polymorfismů ovlivňujících exteriér, zejména pigmentaci, a nových mutací způsobujících nejrůznější choroby. Intenzivně probíhá také výzkum, kde psi slouží jako modelové organismy. Výsledky těchto studií jsou velmi cenné v diagnostice a léčbě lidí. V neposlední řadě zbývá mnoho chorob, u nichž byla již identifikována genetická příčina, popsat na molekulární a biochemické úrovni.

Praxe dokazuje, že je opravdu možné díky molekulárně genetickým metodám a správné chovatelské strategii značně snížit výskyt dědičných onemocnění a zlepšit fitness v chovu psů. V budoucnu bude testování genotypu využívané chovateli mnohem častěji a pravděpodobně se stane rutinní záležitostí vyžadovanou mnohými chovatelskými kluby.

5 Seznam použité literatury

Acland, G. M., Ray, K., Gu, W., Aguirre, G. D., Mellersh, C. S., Langston, A. A., Ostrander, E. A., Rine, J. 1998. Linkage analysis and comparative mapping of canine progressive rod-cone degeneration (prcd) establishes potential locus homology with retinitis pigmentosa (RP17) in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 95 (6). 3048-3053.

Aguirre, G. D., Acland, G. M. 1988. Variation in retinal degeneration phenotype inherited at the prcd locus. *Experimental Eye Research*. 46 (5). 663-687.

Aguirre, G. D., Baldwin, V., Pearce-Kelling, S., Narfström, K., Ray, K., Acland, G. M. 1998. Congenital stationary night blindness in the dog: common mutation in the RPE65 gene indicates founder effect. *Molecular vision*. 4 (23). 1-7.

Ahonen, S. J., Arumilli, M., Lohi, H. 2013. A CNGB1 Frameshift Mutation in Papillon and Phalène Dogs with Progressive Retinal Atrophy. *PLoS ONE*. 8 (8). 1-8.

Awano, T., Johnson, G. S., Wade, C. M., Katz, M. L., Johnson, G. C., Taylor, J. F., Perloski, M., Biagi, T., Baranowska, I., Long, S., March, P. A., Olby, N. J., Shelton, G. D., Khan, S., O'Brien, D. P., Lindblad-Toh, K., Coates, J. R. 2009. Genome-wide association analysis reveals a SOD1 mutation in canine degenerative myelopathy that resembles amyotrophic lateral sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 106 (8). 2794-2799.

Bader, H. L., Ruhe, A. L., Wang, L. W., Wong, A. K., Walsh, K. F., Packer, R. A., Mitelman, J., Robertson, K. R., O'Brien, D. P., Broman, K. W., Shelton, G. D., Apte, S. S., Neff, M. W. 2010. An ADAMTSL2 Founder Mutation Causes Musladin-Lueke Syndrome, a Heritable Disorder of Beagle Dogs, Featuring Stiff Skin and Joint Contractures. *PLoS ONE*. 5 (9). 1-8.

Bannasch, D., Safra, N., Young, A., Karmi, N., Schaible, R. S., Ling, G. V. 2008. Mutations in the SLC2A9 Gene Cause Hyperuricosuria and Hyperuricemia in the Dog. *PLoS Genetics*. 4 (11). 1-8.

Bauer, A., Kehl, A., Jagannathan, V., Leeb, T. 2018. A novel MLPH variant in dogs with coat colour dilution. *Animal Genetics*. 49 (1). 94-97.

Bedford, P. G. 1982. Collie eye anomaly in the United Kingdom. *Veterinary Record*. 111 (12). 263-270.

Berryere, T. G., Kerns, J. A., Barsh, G. S., Schmutz, S. M. 2005. Association of an Agouti allele with fawn or sable coat color in domestic dogs. *Mammalian Genome*. 16 (4). 262-272.

Böhm, J., Vasli, N., Maurer, M., Cowling, B., Shelton, G. D., Kress, W., Toussaint, A., Prokic, I., Schara, U., Anderson, T. J., Weis, J., Tired, L., Laporte, J. 2013. Altered Splicing of the BIN1 Muscle-Specific Exon in Humans and Dogs with Highly Progressive Centronuclear Myopathy. *PLoS Genetics*. 9 (6). 1-15.

Boudreaux, M. K., Catalfamo, J. L., Klok, M. 2007. Calcium-Diacylglycerol Guanine Nucleotide Exchange Factor I gene mutations associated with loss of function in canine platelets. *Translational Research*. 150 (2). 81-92.

Bouhenni, R. A., Dunmire, J., Sewell, A., Edward, D. P. 2012. Animal Models of Glaucoma. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012. 1-11.

Brix, A. E., Howerth, E. W., McConkie-Rosell, A., Peterson, D., Egnor, D., Wells, M. R., Chen, Y. T. 1995. Glycogen Storage Disease Type Ia in Two Littermate Maltese Puppies. *Veterinary Pathology*. 32 (5). 460-465.

Bruun, C. S., Jäderlund, K. H., Berendt, M., Jensen, K. B., Spodsberg, E. H., Gredal, H., Shelton, G. D., Mickelson, J. R., Minor, K. M., Lohi, H., Bjerkås, I., Stigen, Ø., Espenes, A., Rohdin, C., Edlund, R., Ohlsson, J., Cizinauskas, S., Leifsson, P. S., Drögemüller, C., Moe, L. 2013. A Gly98Val Mutation in the N-Myc Downstream Regulated Gene 1 (NDRG1) in Alaskan Malamutes with Polyneuropathy. *PLoS ONE*. 8 (2). 1-7.

Cadiou, E., Neff, M. W., Quignon, P., Walsh, K., Chase, K., Parker, H. G., VonHoldt, B. M., Rhue, A., Boyko, A., Byers, A., Wong, A., Mosher, D. S., Elkahoul, A. G., Spady, T. C., André, C., Lark, K. G., Cargill, M., Bustamante, C. D., Wayne, R. K., Ostrander, E. A. 2009. Coat Variation in the Domestic Dog Is Governed by Variants in Three Genes. *Science*. 326 (5949). 150-153.

Callan, M. B., Aljamali, M. N., Margaritis, P., Griot-Wenk, M. E., Pollak, E. S., Werner, P., Giger, U., High, K. A. 2006. A novel missense mutation responsible for factor VII deficiency in research Beagle colonies. *Journal of Thrombosis*. 4 (12). 2616-2622.

Cameron, J. M., Maj, M. C., Levandovskiy, V., MacKay, N., Shelton, G. D., Robinson, B. H. 2007. Identification of a canine model of pyruvate dehydrogenase phosphatase 1 deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism*. 90 (1). 15-23.

Candille, S. I., Kaelin, C. B., Cattanaach, B. M., Yu, B., Thompson, D. A., Nix, M. A., Kerns, J. A., Schmutz, S. M., Millhauser, G. L., Barsh, G. S. 2007. A β -Defensin Mutation Causes Black Coat Color in Domestic Dogs. *Science*. 318 (5855). 1418-1423.

Clark, L. A., Wahl, J. M., Murphy, K. E., Rees, C. A. 2006. Retrotransposon insertion in *SILV* is responsible for merle patterning of the domestic dog. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103 (5). 1376-1381.

Credille, K. M., Barnhart, K. F., Minor, J. S., Dunstan, R. W. 2005. Mild recessive epidermolytic hyperkeratosis associated with a novel keratin 10 donor splice-site mutation in a family of Norfolk terrier dogs. *British Journal of Dermatology*. 153 (1). 51-58.

Credille, K. M., Minor, J. S., Barnhart, K. F., Lee, E., Cox, M. L., Tucker, K. A., Dunstan, R. W., Diegel, K. L., Hohl, D., Huber, M. 2009. Transglutaminase 1-deficient recessive lamellar ichthyosis associated with a LINE-1 insertion in Jack Russell terrier dogs. *British Journal of Dermatology*. 161 (2). 265-272.

D'Mello, S. A. N., Finlay, G. J., Baguley, B. C., Askarian-Amiri, M. E. 2016. Signaling Pathways in Melanogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*. 17 (7). 1144-1162.

Davidson, A. G., Bell, R. J., Lees, G. E., Kashtan, C. E., Davidson, G. S., Murphy, K. E. 2007. Genetic cause of autosomal recessive hereditary nephropathy in the english cocker spaniel. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 21 (3). 394-401.

Dekomien, G., Runte, M., Gödde, R., Epplen, J. T. 2000. Generalized progressive retinal atrophy of Sloughi dogs is due to an 8-bp insertion in exon 21 of the PDE6B gene. *Cytogenetics and Cell Genetics*. 90 (3-4). 261-267.

de Lima, A. R., Nyengaard, J. R., Jorge, A. A. L., Balieiro, J. C. C., Peixoto, C., Fioretto, E. T., Ambrósio, C. E., Miglino, M. A., Zatz, M., Ribeiro, A. A. C. M. 2007. Muscular dystrophy-related quantitative and chemical changes in adenohipophysis GH-cells in golden retrievers. *Growth Hormone & IGF Research*. 17 (6). 480-491.

Dierks, C., Mömke, S., Philipp, U., Distl, O. 2013. Allelic heterogeneity of FGF5 mutations causes the long-hair phenotype in dogs. *Animal Genetics*. 44 (4). 425-431.

Dimitrijevic, V., Stevanovic, J., Savic, M., Petrujkic, B., Simeunovic, P., Milosevic, I., Stanimirovic, Z. 2013. Validation of 10 Microsatellite Loci for Their use in Parentage Verification and Individual Identification in the Yugoslavian Shepherd Dog Sharplanina. *Annals of Animal Science*. 13 (4). 715-722.

Dostál, J. 2007. *Genetika a šlechtění plemen psů*. 261 s. DONA. České Budějovice. ISBN: 978-80-7322-104-1.

Downs, L. M., Bell, J. S., Freeman, J., Hartley, C., Hayward, L. J., Mellersh, C. S. 2013. Late-onset progressive retinal atrophy in the Gordon and Irish Setter breeds is associated with a frameshift mutation in C2orf71. *Animal Genetics*. 44 (2). 169-177.

Downs, L. M., Wallin-Håkansson, B., Bergström, T., Mellersh, C. S. 2014. A novel mutation in TTC8 is associated with progressive retinal atrophy in the golden retriever. *Canine Genetics and Epidemiology*. 1 (4).

Downs, L. M., Wallin-Håkansson, B., Bournsnel, M., Marklund, S., Hedhammar, Å., Truvé, K., Hübinette, L., Lindblad-Toh, K., Bergström, T., Mellersh, C. S. 2011. A Frameshift

Mutation in Golden Retriever Dogs with Progressive Retinal Atrophy Endorses SLC4A3 as a Candidate Gene for Human Retinal Degenerations. *PLoS ONE*. 6 (6). 1-9.

Dreger, D. L., Schmutz, S. M. 2011. A SINE Insertion Causes the Black-and-Tan and Saddle Tan Phenotypes in Domestic Dogs. *Journal of Heredity*. 1 (102). 11-18.

Dreger, D. L., Schmutz, S. M. 2010. A New Mutation in MC1R Explains a Coat Color Phenotype in 2 "Old" Breeds: Saluki and Afghan Hound. *Journal of Heredity*. 101 (5). 644-649.

Drögemüller, C., Becker, D., Kessler, B., Kemter, E., Tetens, J., Jurina, K., Jäderlund, K. H., Flagstad, A., Perloski, M., Lindblad-Toh, K., Matiasek, K. 2010. A Deletion in the N-Myc Downstream Regulated Gene 1 (NDRG1) Gene in Greyhounds with Polyneuropathy. *PLoS ONE*. 5 (6). 1-11.

Drögemüller, C., Karlsson, E. K., Hytönen, M. K., PerLoski, M., Dolf, G., Sainio, K., Lohi, H., Lindblad-Toh, K., Leeb, T. 2008. A Mutation in Hairless Dogs Implicates FOXP3 in Ectodermal Development. *Science*. 321 (5895). 1462-1462.

Eichmann, C., Berger, B., Steinlechner, M., Parson, W. 2005. Estimating the probability of identity in a random dog population using 15 highly polymorphic canine STR markers. *Forensic Science International*. 151 (1). 37-44.

Everts, R. E., Rothuizen, J., van Oost, B. A. 2000. Identification of a premature stop codon in the melanocyte-stimulating hormone receptor gene (MC1R) in Labrador and Golden retrievers with yellow coat colour. *Animal Genetics*. 31 (3). 194-199.

Farber, D. B., Danciger, J. S., Aguirre, G. 1992. The Beta Subunit of Cyclic GMP Phosphodiesterase mRNA Is Deficient in Canine Rod-Cone Dysplasia 1. *Neuron*. 9 (2). 349-356.

Farias, F. H. G., Johnson, G. S., Taylor, J. F., Giuliano, E., Katz, M. L., Sanders, D. N., Schnabel, R. D., Khan, S. D., Gharahkhani, S., O'Leary, C. A., Pettitt, L., Forman, O. P., Bournsnel, M., McLaughlin, B., Ahonen, S., Lohi, H., Hernandez-Merino, E., Gould, D. J.,

Sargan, D. R., Mellersh, C. 2010. An ADAMTS17 splice donor site mutation in dogs with primary lens luxation. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 51 (9). 4716-4721.

Fenn, J., Bournsnel, M., Hitti, R. J., Jenkins, C. A., Terry, R. L., Priestnall, S. L., Kenny, P. J., Mellersh, C. S., Forman, O. P. 2016. Genome sequencing reveals a splice donor site mutation in the SNX14 gene associated with a novel cerebellar cortical degeneration in the Hungarian Vizsla dog breed. *BMC Genetics*. 17 (123). 1-8.

Firdova, Z., Turnova, E., Bielikova, M., Turna, J., Dudas, A. 2016. The prevalence of ABCB1:c.227_230delATAG mutation in affected dog breeds from European countries. *Research In Veterinary Science*. 106. 89-92.

Forman, O. P., De Risio, L., Mellersh, C. S. 2013. Missense Mutation in CAPN1 Is Associated with Spinocerebellar Ataxia in the Parson Russell Terrier Dog Breed. *PLoS ONE*. 8 (5). 1-8.

Forman, O. P., De Risio, L., Stewart, J., Mellersh, C. S., Beltran, E. 2012. Genome-wide mRNA sequencing of a single canine cerebellar cortical degeneration case leads to the identification of a disease associated SPTBN2 mutation. *BMC Genetics*. 13 (55). 1-11.

Forman, O. P., Penderis, J., Hartley, C., Hayward, L. J., Ricketts, S. L., Mellersh, C. S. 2012. Parallel Mapping and Simultaneous Sequencing Reveals Deletions in BCAN and FAM83H Associated with Discrete Inherited Disorders in a Domestic Dog Breed. *PLoS Genetics*. 8 (1). 1-9.

Frischknecht, M., Niehof-Oellers, H., Jagannathan, V., Owczarek-Lipska, M., Drögemüller, C., Dietschi, E., Dolf, G., Tellhelm, B., Lang, J., Tiira, K., Lohi, H., Leeb, T. 2013. A COL11A2 Mutation in Labrador Retrievers with Mild Disproportionate Dwarfism. *PLoS ONE*. 8 (3). 1-9.

Gagliardi, R., Llambí, S., Arruga, M. V. 2015. SNP genetic polymorphisms of MDR-1, CYP1A2 and CYPB11 genes in four canine breeds upon toxicological evaluation. *Journal of Veterinary Science*. 16 (3). 273-280.

Gavazza, A., Presciuttini, S., Keuper, H., Lubas, G. 2012. Estimated prevalence of canine Type 2 Von Willebrand disease in the Deutsch-Drahthaar (German Wirehaired Pointer) in Europe. *Research in Veterinary Science*. 93 (3). 1462-1466.

Gentilini, F., Turba, M. E. 2013. Two novel real-time PCR methods for genotyping the von Willebrand disease type I mutation in Doberman Pinscher dogs. *The Veterinary Journal*. 197 (2). 457-460.

Gharahkhani, P., O'Leary, C. A., Kyaw-Tanner, M., Sturm, R. A., Duffy, D. L. 2011. A Non-Synonymous Mutation in the Canine Pkd1 Gene Is Associated with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease in Bull Terriers. *PLoS ONE*. 6 (7). 1-8.

Gilliam, D., O'Brien, D. P., Coates, J. R., Johnson, G. S., Johnson, G. C., Mhlanga-Mutangadura, T., Hansen, L., Taylor, J. F., Schnabel, R. D. 2014. A Homozygous KCNJ10 Mutation in Jack Russell Terriers and Related Breeds with Spinocerebellar Ataxia with Myokymia, Seizures, or Both. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 28 (3). 871-877.

Goldstein, O., Jordan, J. A., Acland, G. M., Aguirre, G. D. 2013. A non-stop S-antigen gene mutation is associated with late onset hereditary retinal degeneration in dogs. *Molecular Vision*. 19. 1871-1884.

Grall, A., Guaguère, E., Planchais, S., Grond, S., Bourrat, E., Hausser, I., Hitte, C., Le Gallo, M., Derbois, C., Kim, G. -J., Lagoutte, L., Degorce-Rubiales, F., Radner, F. P. W., Thomas, A., Küry, S., Bensignor, E., Fontaine, J., Pin, D., Zimmermann, R., Zechner, R. 2012. PNPLA1 mutations cause autosomal recessive congenital ichthyosis in golden retriever dogs and humans. *Nature Genetics*. 44 (2). 140-147.

Gregory, B. L., Shelton, G. D., Bali, D. S., Chen, Y. -T., Fyfe, J. C. 2007. Glycogen storage disease type IIIa in curly-coated retrievers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 21 (1). 40-46.

Gultekin, G. I., Raj, K., Foureman, P., Lehman, S., Giger, U., Manhart, K., Abdulmalik, O. 2012. Erythrocytic Pyruvate Kinase Mutations Causing Hemolytic Anemia, Osteosclerosis,

and Secondary Hemochromatosis in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 26 (4). 935-944.

Guziewicz, K. E., Zangerl, B., Lindauer, S. J., Mullins, R. F., Sandmeyer, L. S., Grahn, B. H., Stone, E. M., Acland, G. M., Aguirre, G. D. 2007. Bestrophin gene mutations cause canine multifocal retinopathy: A novel animal model for best disease. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 48 (5). 1959-1967.

Hashimoto, A., Hirai, K., Yamaguchi, T., Fujimoto, Y. 1982. Experimental transplacental infection of pregnant dogs with canine herpesvirus. *American Journal of Veterinary Research*. 43 (5). 844-850.

Hayward, J. J., Castelhana, M. G., Oliviera, K. C., Corey, E., Balkman, C., Baxter, T. L., Casal, M. L., Center, S. A., Fang, M., Garrison, S. J., Kalla, S. E., Korniliev, P., Kotlikoff, M. I., Moise, N. S., Shannon, L. M., Simpson, K. W., Sutter, N. B., Todhunter, R. J., Boyko, A. R. 2016. Complex disease and phenotype mapping in domestic dog. *Nature Communications*. 7 (10460).

Henthorn, P. S., Liu, J., Gidalevich, T., Fang, J., Casal, M. L., Patterson, D. F., Giger, U. 2000. Canine cystinuria: Polymorphism in the canine SLC3A1 gene and identification of a nonsense mutation in cystinuric Newfoundland dogs. *Human Genetics*. 107 (4). 295-303.

Hédan, B., Corre, S., Hitte, C., Dréano, S., Vilboux, T., Derrien, T., Denis, B., Galibert, F., Galibert, M. -D., André, C. 2006. Coat colour in dogs: identification of the Merle locus in the Australian shepherd breed. *BMC Veterinary Research*. 2.

Hrckova Turnova, E., Majchrakova, Z., Bielikova, M., Soltys, K., Turna, J., Dudas, A. 2017. A novel mutation in the TYRP1 gene associated with brown coat colour in the Australian Shepherd Dog Breed. *Animal Genetics*. 48 (5). 626-626.

Hytönen, M. K., Arumilli, M., Lappalainen, A. K., Owczarek-Lipska, M., Jagannathan, V., Hundi, S., Salmela, E., Venta, P., Sarkiala, E., Jokinen, T., Gorgas, D., Kere, J., Nieminen, P., Drögemüller, C., Lohi, H. 2016. Molecular Characterization of Three Canine Models of

Human Rare Bone Diseases: Caffey, van den Ende-Gupta, and Raine Syndromes. *PLoS Genetics*. 12 (5). 1-20.

Chen, X., Johnson, G., Schnabel, R., Taylor, J., Johnson, G., Parker, H., Patterson, E., Katz, M., Awano, T., Khan, S., O'Brien, D. 2008. A neonatal encephalopathy with seizures in standard poodle dogs with a missense mutation in the canine ortholog of ATF2. *Neurogenetics*. 9 (1). 41-49.

Ichikawa, Y., Takagi, K., Tsumagari, S., Ishihama, K., Morita, M., Kanemaki, M., Takeishi, M., Takahashi, H. 2001. Canine parentage testing based on microsatellite polymorphisms. *Journal of Veterinary Medical Science (Japan)*. 63 (11). 1209-1213.

Ivansson, E. L., Megquier, K., Kozyrev, S. V., Murén, E., Lindblad-Toh, K., Swofford, R., Koltookian, M., Tonomura, N., Körberg, I. B., Zeng, R., Kolicheski, A. L., Hansen, L., Johnson, G. C., Johnson, G. S., Katz, M. L., Coates, J. R. 2016. Variants within the SP110 nuclear body protein modify risk of canine degenerative myelopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 113 (22). 3091-3100.

Jokinen, T. S., Metsähonkala, L., Bergamasco, L., Viitmaa, R., Syrjä, P., Lohi, H., Snellman, M., Bergamasco, L., Cizinauskas, J. 2007. Benign familial juvenile epilepsy in lagotto romagnolo dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 21 (3). 464-471.

Karli, P., Henke, D., Karol, A., Oevermann, A., Drögemüller, C., Gorgas, D. 2014. The canine neuronal ceroid-lipofuscinosis: A review. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*. 156 (9). 417-423.

Karmi, N., Brown, E. A., Hughes, S. S., McLaughlin, B., Mellersh, C. S., Biourge, V., Bannasch, D. L. 2010. Estimated Frequency of the Canine Hyperuricosuria Mutation in Different Dog Breeds. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 24 (6). 1337-1342.

Katz, M. L., Rustad, E., Robinson, G. O., Whiting, R. E. H., Student, J. T., Coates, J. R., Narfstrom, K. 2017. Canine neuronal ceroid lipofuscinoses: Promising models for preclinical testing of therapeutic interventions. *Neurobiology of Disease*. 108. 277-287.

Kerns, J. A., Cargill, E. J., Clark, L. A., Candille, S. I., Berryere, T. G., Olivier, M., Lust, G., Todhunter, R. J., Schmutz, S. M., Murphy, K. E., Barsh, G. S. 2007. Linkage and segregation analysis of black and brindle coat color in domestic dogs. *Genetics*. 176 (3). 1679-1689.

Kerns, J. A., Newton, J., Berryere, T. G., Rubin, E. M., Cheng, J. -F., Schmutz, S. M., Barsh, G. S. 2004. Characterization of the dog agouti gene and a nonagouti mutation in German Shepherd Dogs. *Mammalian Genome*. 15 (10). 798-808.

Kijas, J. M. H., Gäfvert, S., Marklund, S., Juneja, R. K., Andersson, L., Trowald-Wigh, G., Hedhammar, Å., Johannisson, A., Bauer Jr., T. R., Hickstein, D. D., Binns, M. 1999. A missense mutation in the β -2 integrin gene (ITGB2) causes canine leukocyte adhesion deficiency. *Genomics*. 61 (1). 101-107.

Kijas, J. W., Miller, B. J., Pearce-Kelling, S. E., Aguirre, G. D., Acland, G. M. 2003. Canine Models of Ocular Disease: Outcross Breedings Define a Dominant Disorder Present in the English Mastiff and Bull Mastiff Dog Breeds. *Journal of Heredity*. 94 (1). 27-30.

Kijas, J. W., Pearce-Kelling, S. E., Miller, B. J., Aguirre, G. D., Acland, G. M., Cideciyan, A. V., Aleman, T. S., Pianta, M. J., Jacobson, S. G. 2002. Naturally occurring rhodopsin mutation in the dog causes retinal dysfunction and degeneration mimicking human dominant retinitis pigmentosa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 99 (9). 6328-6333.

Kirkness, E. F., Delcher, A. L., Pop, M., Wang, W., Fraser, C. M., Bafna, V., Halpern, A. L., Levy, S., Remington, K., Rusch, D. B., Venter, J. C. 2003. The dog genome: Survey sequencing and comparative analysis. *Science*. 301 (5641). 1898-1903.

Kishnani, P. S., Bao, Y., Wu, J. -Y., Brix, A. E., Lin, J. -L., Chen, Y. -T. 1997. Isolation and Nucleotide Sequence of Canine Glucose-6-phosphatase mRNA: Identification of Mutation in Puppies with Glycogen Storage Disease Type Ia. *Biochemical and Molecular Medicine*. 61 (2). 168-177.

Kobatake, Y., Sakai, H., Tsukui, T., Yamato, O., Kohyama, M., Sasaki, J., Kato, S., Urushitani, M., Maeda, S., Kamishina, H. 2017. Localization of a mutant SOD1 protein in E40K-heterozygous dogs: Implications for non-cell-autonomous pathogenesis of degenerative myelopathy. *Journal of the Neurological Sciences*. 372. 369-378.

Kobayashi, T., Urabe, K., Tsukamoto, K., Brewington, T., Potterf, B., Hearing, V. J., Winder, A., Imokawa, G. 1994. DHICA Oxidase Activity of TRP1 and Interactions With Other Melanogenic Enzymes. *Pigment Cell Research*. 7 (4). 227-234.

Kropatsch, R., Akkad, D. A., Frank, M., Rosenhagen, C., Altmüller, J., Nürnberg, P., Epplen, J. T., Dekomien, G. 2016. A large deletion in RPGR causes XLPRA in Weimaraner dogs. *Canine Genetics*. 3 (7). 1-9.

Kuchtey, J., Kunkel, J., Esson, D., Sapienza, J. S., Ward, D. A., Plummer, C. E., Gelatt, K. N., Kuchtey, R. W. 2013. Screening ADAMTS10 in dog populations supports Gly661Arg as the glaucoma-causing variant in beagles. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 54 (3). 1881-1886.

Kukekova, A. V., Goldstein, O., Johnson, J. L., Richardson, M. A., Pearce-Kelling, S. E., Swaroop, A., Friedman, J. S., Aguirre, G. D., Acland, G. M. 2009. Canine RD3 mutation establishes rod-cone dysplasia type 2 (rcd2) as ortholog of human and murine rd3. *Mammalian Genome*. 20 (2). 109-123.

Kyöstilä, K., Lappalainen, A. K., Lohi, H. 2013. Canine Chondrodysplasia Caused by a Truncating Mutation in Collagen-Binding Integrin Alpha Subunit 10. *PLoS ONE*. 8 (9). 1-13.

Kyöstilä, K., Syrjä, P., Jagannathan, V., Chandrasekar, G., Jokinen, T. S., Seppälä, E. H., Becker, D., Drögemüller, M., Dietschi, E., Drögemüller, C., Lang, J., Steffen, F., Rohdin, C., Jäderlund, K. H., Lappalainen, A. K., Hahn, K., Wohlsein, P., Baumgärtner, W., Henke, D., Oevermann, A. 2015. A Missense Change in the ATG4D Gene Links Aberrant Autophagy to a Neurodegenerative Vacuolar Storage Disease. *PLoS Genetics*. 11 (4). 1-22.

Lees, G. E., Wilson, P. D., Helman, R. G., Homco, L. D., Frey, M. S. 1997. Glomerular ultrastructural findings similar to hereditary nephritis in 4 English cocker spaniels. *Journal of*

veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine. 11 (2). 80-85.

Lindblad-Toh, K., Wade, C. M., Mikkelsen, T. S., Karlsson, E. K., Jaffe, D. B., Kamal, M., Clamp, M., Chang, J. L., Kulbokas III, E. J., Zody, M. C., Mauceli, E., Xie, X., Alvarez, P., Biagi, T., Brockman, W., Butler, J., Chin, C. -W., Cook, A., Cuff, J., Daly, M. J., DeCaprio, D., Gnerre, S., Grabherr, M., Kellis, M., Kleber, M., Lander, E. S., Breen, M., Thomas, R., Wayne, R. K., Bardeleben, C., Koepfli, K. -P., Pollinger, J. P., Ostrander, E. A., Kim, L., Parker, H. G., Sutter, N. B., Ponting, C. P., Goodstadt, L., Heger, A., Webber, C., Galibert, F., Hitte, C., Smith, D. R., DeJong, P. J., Kirkness, E., Searle, S. M. J. 2005. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*. 438 (7069). 803-819.

Lowe, J. K., Langlois, M. C., Ostrander, E. A., Kukekova, A. V., Aguirre, G. D., Acland, G. M., Kirkness, E. F. 2003. Linkage mapping of the primary disease locus for collie eye anomaly. *Genomics*. 82 (1). 86-95.

Lu, D., Willard, D., Patel, I. R., Kadwell, S., Overton, L., Kost, T., Luther, M., Chen, W., Woychik, R. P., Wilkinson, W. O., Cone, R. D. 1994. Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating-hormone receptor. *Nature*. 371. 799-802.

Marks, M. S., Seabra, M. C. 2001. The Melanosome: Membrane dynamics in black and white. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2 (10). 738-748.

Martinez, M., Modric, S., Sharkey, M., Troutman, L., Walker, L., Mealey, K. 2008. The pharmacogenomics of P-glycoprotein and its role in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology*. 31 (4). 285-300.

Marvan, F., Hampl, A., Hložánková, E., Kresan, J., Massanyi, L., Vernerová, E. 2003. *Morfologie hospodářských zvířat*. Brázda. Praha. ISBN: 80-209-0319-4.

Mauri, N., Kleiter, M., Dietschi, E., Leschnik, M., Högler, S., Wiedmer, M., Dietrich, J., Henke, D., Steffen, F., Schuller, S., Gurtner, C., Stokar-Regenscheit, N., O'Toole, D., Bilzer, T., Herden, C., Oevermann, A., Jagannathan, V., Leeb, T. 2017. A SINE Insertion in ATP1B2

in Belgian Shepherd Dogs Affected by Spongy Degeneration with Cerebellar Ataxia (SDCA2). *G3: Genes, Genomes, Genetics*. 7 (8). 2729-2737.

Mealey, K. L. 2006. Adverse drug reactions in herding-breed dogs: The role of P-glycoprotein. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*. 28 (1). 23-33.

Mealey, K. L., Bentjen, S. A., Gay, J. M., Cantor, G. H. 2001. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *mdr1* gene. *Pharmacogenetics*. 11 (8). 727-733.

Mellersh, C. S., Pettitt, L., Forman, O. P., Vaudin, M., Barnett, K. C. 2006. Identification of mutations in *HSF4* in dogs of three different breeds with hereditary cataracts. *Veterinary Ophthalmology*. 9 (5). 369-378.

Merveille, A. -C., Davis, E. E., Becker-Heck, A., Legendre, M., Amirav, I., Bataille, G., Belmont, J., Beydon, N., Billen, F., Clément, A., Clercx, C., Coste, A., Crosbie, R., de Blic, J., Deleuze, S., Duquesnoy, P., Escalier, D., Escudier, E., Fliegau, M., Horvath, J., Hill, K., Jorissen, M., Kispert, A., Lathrop, M., Loges, N. T., Marthin, J. K., Yukihide, M., Montantin, G., Nielsen, K. G., Olbrich, H., Papon, J. -F., Rayet, I., Roger, G., Schmidts, M., Tenreiro, H., Towbin, J. A., Zelenika, D., Zentgraf, H., Georges, M., Lequarré, A. -S., Katsanis, N., Omran, H., Amselem, S. 2011. *CCDC39* is required for assembly of inner dynein arms and the dynein regulatory complex and for normal ciliary motility in humans and dogs. *Nature Genetics*. 43 (1). 72-78.

Mhlanga-Mutangadura, T., Johnson, G. S., Schnabel, R. D., Taylor, J. F., Johnson, G. C., Katz, M. L., Shelton, G. D., Lever, T. E., Giuliano, E., Shomper, J., O'Brien, D. P., Granger, N. 2016. A mutation in the Warburg syndrome gene, *RAB3GAP1*, causes a similar syndrome with polyneuropathy and neuronal vacuolation in Black Russian Terrier dogs. *Neurobiology of Disease*. 86. 75-85.

Miluchová, M., Gábor, M., Trakovická, A., Hanusová, J., Zubrická, S., Zubrický, P. 2015. Identification of Cryptic Allele for Merle Patterning in Dogs by Molecular Genetics Methods. *Acta Veterinaria-Beograd*. 65 (2). 238-245.

Moore, G. E., Burkman, K. D., Carter, M. N., Peterson, M. R. 2001. Causes of death or reasons for euthanasia in military working dogs: 927 cases (1993-1996). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 219 (2). 209-214.

Mosher, D. S., Quignon, P., Bustamante, C. D., Sutter, N. B., Mellersh, C. S., Parker, H. G., Ostrander, E. A. 2007. A Mutation in the Myostatin Gene Increases Muscle Mass and Enhances Racing Performance in Heterozygote Dogs. *PLoS Genetics*. 3 (5). 1-8.

Newton, J. M., Wilkie, A. L., He, L., Jordan, S. A., Metallinos, D. L., Holmes, N. G., Jackson, I. J., Barsh, G. S. 2000. Melanocortin 1 receptor variation in the domestic dog. *Mammalian Genome*. 11 (1). 24-30.

O'Driscoll, M. 2012. Diseases associated with defective responses to DNA damage. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 4 (12).

Ogden, R., Mellanby, R. J., Clements, D., Gow, A. G., Powell, R., McEwing, R. 2012. Genetic data from 15 STR loci for forensic individual identification and parentage analyses in UK domestic dogs (*Canis lupus familiaris*). *Forensic Science International: Genetics*. 6 (2). 63-65.

Ostrander, E. A., Wayne, R. K. 2005. The canine genome. *Genome Research*. 15. 1706-1716.

Owczarek-Lipska, M., Jagannathan, V., Drögemüller, C., Lutz, S., Glanemann, B., Leeb, T., Kook, P. H. 2013. A Frameshift Mutation in the Cubilin Gene (CUBN) in Border Collies with Imerslund-Gräsbeck Syndrome (Selective Cobalamin Malabsorption). *PLoS ONE*. 8 (4). 1-6.

Parker, H. G., Cadieu, E., Ostrander, E. A., Chase, K., Lark, K. G. 2010. An Insertion in the RSPO2 Gene Correlates with Improper Coat in the Portuguese Water Dog. *Journal of Heredity*. 101 (5). 612-617.

Parker, H. G., Baysac, K. C., Mosher, D. S., Ostrander, E. A., Kukekova, A. V., Goldstein, O., Acland, G. M., Akey, D. T., Kirkness, E. F., Aguirre, G. D. 2007. Breed relationships facilitate fine-mapping studies: A 7.8-kb deletion cosegregates with Collie eye anomaly across multiple dog breeds. *Genome Research*. 17 (11). 1562-1571.

Parker, H. G., Harris, A., Dreger, D. L., Davis, B. W., Ostrander, E. A. 2017. The bald and the beautiful: hairlessness in domestic dog breeds. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 372 (1713). 1-8.

Pechandová, K., Buzková, H., Slanař, O., Perlík, F. 2006. Efluxní transmembránový transportér – P-glykoprotein. *Klinická Biochemie a Metabolismus*. 14 (4). 196-201.

Pelé, M., Tiret, L., Kessler, J. -L., Blot, S., Panthier, J. -J. 2005. SINE exonic insertion in the PTPLA gene leads to multiple splicing defects and segregates with the autosomal recessive centronuclear myopathy in dogs. *Human Molecular Genetics*. 14 (11). 1417-1427.

Penderis, J., Calvin, J., Abramson, C., Jakobs, C., Pettitt, L., Binns, M. M., Verhoeven, N. M., O'Driscoll, E., Platt, S. R., Mellersh, C. S. 2007. L-2-hydroxyglutaric aciduria: characterisation of the molecular defect in a spontaneous canine model. *Journal of Medical Genetics*. 44 (5). 334-340.

Petersen-Jones, S. M., Entz, D. D., Sargan, D. R. 1999. CGMP phosphodiesterase- α mutation causes progressive retinal atrophy in the Cardigan Welsh corgi dog. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 40 (8). 1637-1644.

Pfahler, S., Bachmann, N., Fehler, C., Lempp, C., Baumgärtner, W., Distl, O. 2014. Degenerative myelopathy in a SOD1 compound heterozygous Bernese mountain dog. *Animal Genetics*. 45 (2). 309-310.

Philipp, U., Hamann, H., Mecklenburg, L., Nishino, S., Mignot, E., Günzel-Apel, A. - R., Schmutz, S. M., Leeb, T. 2005. Polymorphisms within the canine MLPH gene are associated with dilute coat color in dogs. *BMC Genetics*. 6 (34). 1-15.

Pichard, V., Provost, N., Mendes-Madeira, A., Libeau, L., Hulin, P., Tshilenge, K. -T., Biget, M., Ameline, B., Deschamps, J. -Y., Weber, M., Le Meur, G., Colle, M. -A., Moullier, P., Rolling, F. 2016. AAV-mediated Gene Therapy Halts Retinal Degeneration in PDE6 β -deficient Dogs. *Molecular Therapy*. 24 (5). 867-876.

Prota, G. 1980. Recent Advances in the Chemistry of Melanogenesis in Mammals. *Journal of Investigative Dermatology*. 75 (1). 122-127.

Rhodes, T. H., Vite, C. H., Giger, U., Fahlke, C., George Jr., A. . 1999. A missense mutation in canine CIC-1 causes recessive myotonia congenita in the dog. *FEBS Letters*. 456 (1). 54-58.

Roberts, M. C., Mickelson, J. R., Patterson, E. E., Nelson, T. E., Armstrong, P. J., Brunson, D. B., Hogan, K. 2001. Autosomal dominant canine malignant hyperthermia is caused by a mutation in the gene encoding the skeletal muscle calcium release channel (RYR1). *Anesthesiology*. 95 (3). 716-725.

Sayyab, S., Viluma, A., Andersson, G., Bergström, T. F., Bergvall, K., Brunberg, E., Jagannathan, V., Leeb, T. 2016. Whole-genome sequencing of a canine family trio reveals a FAM83G variant associated with hereditary footpad hyperkeratosis. *G3: Genes, Genomes, Genetics*. 6 (3). 521-527.

Seppälä, E. H., Jokinen, T. S., Fukata, M., Fukata, Y., Webster, M. T., Karlsson, E. K., Kilpinen, S. K., Steffen, F., Dietschi, E., Leeb, T., Eklund, R., Zhao, X., Rilstone, J. J., Lindblad-Toh, K., Minassian, B. A., Lohi, H. 2011. LGI2 Truncation Causes a Remitting Focal Epilepsy in Dogs. *PLoS Genetics*. 7 (7). 1-10.

Seppälä, E. H., Reuser, A. J. J., Lohi, H. 2013. A Nonsense Mutation in the Acid α -Glucosidase Gene Causes Pompe Disease in Finnish and Swedish Lapphunds. *PLoS ONE*. 8 (2). 1-5.

Shearman, J. R., Wilton, A. N. 2011. A canine model of Cohen syndrome: Trapped Neutrophil Syndrome. *BMC Genomics*. 12 (1). 258-258.

Shirokova, V., Jussila, M., Hytönen, M. K., Perälä, N., Drögemüller, C., Leeb, T., Lohi, H., Sainio, K., Thesleff, I., Mikkola, M. L. 2013. Expression of Foxi3 is regulated by ectodysplasin in skin appendage placodes. *Developmental Dynamics*. 242 (6). 593-603.

Schmutz, S. M., Berryere, T. G. 2007. Genes affecting coat colour and pattern in domestic dogs: a review. *Animal genetics*. 38 (6). 539-549.

Schmutz, S. M., Berryere, T. G., Ellinwood, N. M., Kerns, J. A., Barsh, G. S. 2003. MC1R Studies in Dogs With Melanistic Mask or Brindle Patterns. *Journal of Heredity*. 94 (1). 69-73.

Schmutz, S. M., Berryere, T. G., Goldfinch, A. D. 2002. TYRP1 and MC1R genotypes and their effects on coat color in dogs. *Mammalian Genome*. 13 (7). 380-387.

Schmutz, S. M., Melekhovets, Y. 2012. Coat color DNA testing in dogs: Theory meets practice. *Molecular and Cellular Probes*. 26 (6). 238-242.

Skelly, B. J., Sargan, D. R., Herrtage, M. E., Winchester, B. G. 1996. The molecular defect underlying canine fucosidosis. *Journal of Medical Genetics*. 33 (4). 284-288.

Smith, B. F., Stedman, H., Rajpurohit, Y., Henthorn, P. S., Wolfe, J. H., Patterson, D. F., Giger, U. 1996. Molecular basis of canine muscle type phosphofructokinase deficiency. *Journal of Biological Chemistry*. 271 (33).

Steffen, F., Bilzer, T., Brands, J., Golini, L., Jagannathan, V., Wiedmer, M., Drögemüller, M., Drögemüller, C., Leeb, T. 2015. A Nonsense Variant in COL6A1 in Landseer Dogs with Muscular Dystrophy. *G3: Genes | Genomes | Genetics*. 5 (12). 2611-2617.

Strain, G. 1999. Congenital deafness and its recognition. *Veterinary Clinics of North America: Small animal practice*. 29 (4). 895-908.

Suber, M. L., Hurwitz, R. L., Qin, N., Wright, G. C., Craft, C. M., Lee, R. H., Pittler, S. J., Lolley, R. N., Holcombe, V., Baehr, W. 1993. Irish setter dogs affected with rod/cone

dysplasia contain a nonsense mutation in the rod cGMP phosphodiesterase beta-subunit gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 90 (9). 3968-3972.

Swain, L., Key, G., Tauro, A., Ahonen, S., Wang, P., Ackerley, C., Minassian, B. A., Rusbridge, C. 2017. Lafora disease in miniature Wirehaired Dachshunds. *PLoS ONE*. 12 (8). 1-13.

Switonski, M., Mankowska, M., Salamon, S. 2013. Family of melanocortin receptor (MCR) genes in mammals-mutations, polymorphisms and phenotypic effects. *Journal of Applied Genetics*. 54 (4). 461-472.

Šmarda, J., Doškař, J., Pantůček, R., Růžičková, V., Koptíková, J. 2005. *Metody molekulární biologie*. 194 s. Masarykova univerzita. Brno. ISBN: 80-210-3841-1.

Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*. 17 (16). 6463-6471.

Tsuboi, M., Watanabe, M., Nibe, K., Yoshimi, N., Kato, A., Sakaguchi, M., Yamato, O., Tanaka, M., Kuwamura, M., Kushida, K., Ishikura, T., Harada, T., Chambers, J. K., Sugano, S., Uchida, K., Nakayama, H. 2017. Identification of the PLA2G6 c.1579GA Missense Mutation in Papillon Dog Neuroaxonal Dystrophy Using Whole Exome Sequencing Analysis. *PLoS ONE*. 12 (1). 1-17.

van Asch, B., Alves, C., Gusmão, L., Pereira, V., Pereira, F., Amorim, A. 2009. A new autosomal STR nineplex for canine identification and parentage testing. *Electrophoresis*. 30 (2). 417-23.

van de Sluis, B., Rothuizen, J., Pearson, P. L., van Oost, B. A., Wijmenga, C. 2002. Identification of a new coppermetabolism gene by positional cloning in a purebred dog population. *Human Molecular Genetics*. 11 (2). 165-173.

van Poucke, M., Stee, K., Bhatti, S. F. M., Vanhaesebrouck, A., Bosseler, L., Peelman, L. J., Van Ham, L. 2017. The novel homozygous KCNJ10 c.986TC (p.(Leu329Pro)) variant is

pathogenic for the SeSAME/EAST homologue in Malinois dogs. *European Journal of Human Genetics*. 25 (2). 222-226.

Videira, I. F. dos S., Moura, D. F. L., Magina, S. 2013. Mechanisms regulating melanogenesis. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 88 (1). 76-83.

Vidgren, G., Vainio-Siukola, K., Honkasalo, S., Dillard, K., Anttila, M., Vauhkonen, H. 2012. Primary hyperoxaluria in Coton de Tulear. *Animal Genetics*. 43 (3). 356-361.

Vilboux, T., Chaudieu, G., Jeannin, P., Delattre, D., Hedan, B., Bourgain, C., Queney, G., Galibert, F., Thomas, A., André, C. 2008. Progressive Retinal Atrophy in the Border Collie: A new XLPRA. *BMC Veterinary Research*. 4 (10). 1-13.

Voorbij, A. M. W. Y., Kooistra, H. S. 2009. Pituitary Dwarfism in German Shepherd Dogs. *JVCS*. 2 (1). 4-11.

Voorbij, A. M. W. Y., Leegwater, P. A., Kooistra, H. S. 2014. Pituitary Dwarfism in Saarloos and Czechoslovakian Wolfdogs is Associated with a Mutation in LHX3. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 28. 1770-1774.

Voorbij, A. M. W. Y., van Steenbeek, F. G., Vos-Loohuis, M., Martens, E. E. C. P., Hanson-Nilsson, J. M., van Oost, B. A., Kooistra, H. S., Leegwater, P. A. 2011. A Contracted DNA Repeat in LHX3 Intron 5 Is Associated with Aberrant Splicing and Pituitary Dwarfism in German Shepherd Dogs. *PLoS ONE*. 6 (11). 1-9.

Vos-Loohuis, M., van Oost, B. A., Dangel, C., Langbein-Detsch, I., Leegwater, P. A. 2017. A novel VWF variant associated with type 2 von Willebrand disease in German Wirehaired Pointers and German Shorthaired Pointers. *Animal Genetics*. 48 (4). 493-496.

Wang, Z., Zeng, B., Shibuya, H., Johnson, G., Alroy, J., Pastores, G., Raghavan, S., Kolodny, E. 2000. Isolation and characterization of the normal canine β -galactosidase gene and its mutation in a dog model of GM1-gangliosidosis. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 23 (6). 593-606.

Welle, M., Philipp, U., Rüfenacht, S., Roosje, P., Scharfenstein, M., Schütz, E., Brenig, B., Linek, M., Mecklenburg, L., Grest, P., Drögemüller, M., Haase, B., Leeb, T., Drögemüller, C. 2009. MLPH Genotype—Melanin Phenotype Correlation in Dilute Dogs. *Journal of Heredity*. 100 (1). 75-79.

Wenger, D. A., Victoria, T., Rafi, M. A., Luzi, P., Vanier, M. T., Vite, C., Patterson, D. F., Haskins, M. H. 1999. Globoid cell leukodystrophy in cairn and West Highland white terriers. *Journal of Heredity*. 90 (1). 138-142.

Wictim, E., Kun, T., Lindquist, C., Malvick, J., Vankan, D., Sacks, B. 2013. Developmental validation of DogFiler, a novel multiplex for canine DNA profiling in forensic casework. *Forensic Science International: Genetics*. 7 (1). 82-91.

Wielander, F., Sarviaho, R., James, F., Hytönen, M. K., Cortez, M. A., Kluger, G., Koskinen, L. L. E., Arumilli, M., Kornberg, M., Bathen-Noethen, A., Tipold, A., Rentmeister, K., Bhatti, S. F. M., Hülsmeier, V., Boettcher, I. C., Tästensen, C., Flegel, T., Dietschi, E., Leeb, T., Matiasek, K., Fischer, A., Lohi, H. 2017. Generalized myoclonic epilepsy with photosensitivity in juvenile dogs caused by a defective DIRAS family GTPase 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 114 (10). 2669-2674.

Wiener, D. J., Gurtner, C., Panakova, L., Mausberg, T. -B., Müller, E. J., Drögemüller, C., Leeb, T., Welle, M. M. 2013. Clinical and histological characterization of hair coat and glandular tissue of Chinese crested dogs. *Veterinary Dermatology*. 24 (2). 274-283.

Wiik, A. C., Ropstad, E. O., Ekesten, B., Karlstam, L., Wade, C. M., Lingaas, F. 2015. Progressive retinal atrophy in Shetland sheepdog is associated with a mutation in the CNGA1 gene. *Animal Genetics*. 46 (5). 515-521.

Winkler, P. A., Ekenstedt, K. J., Occelli, L. M., Frattaroli, A. V., Bartoe, J. T., Venta, P. J., Petersen-Jones, S. M. 2013. A Large Animal Model for CNGB1 Autosomal Recessive Retinitis Pigmentosa. *PLoS ONE*. 8 (8). 1-11.

Yang, F., O'Brien, P. C., Milne, B. S., Graphodatsky, A. S., Solanky, N., Trifonov, V., Rens, W., Sargan, D., Ferguson-Smith, M. A. 1999. A complete comparative chromosome map

for the dog, red fox, and human and its integration with canine genetic maps. *Genomics*. 62 (2). 189-202.

Yeh, C. Y., Goldstein, O., Kukekova, A. V., Holley, D., Knollinger, A. M., Huson, H. J., Pearce-Kelling, S. E., Acland, G. M., Komáromy, A. M. 2013. Genomic deletion of *CNGB3* is identical by descent in multiple canine breeds and causes achromatopsia. *BMC Genetics*. 14 (27). 1-12.

Zangerl, B., Goldstein, O., Philp, A. R., Lindauer, S. J. P., Pearce-Kelling, S. E., Mullins, R. F., Graphodatsky, A. S., Ripoll, D., Felix, J. S., Stone, E. M., Acland, G. M., Aguirre, G. D. 2006. Identical mutation in a novel retinal gene causes progressive rod–cone degeneration in dogs and retinitis pigmentosa in humans. *Genomics*. 88 (5). 551-563.

Zeng, R., Coates, J. R., Johnson, G. C., Hansen, L., Awano, T., Kolichski, A., Ivansson, E., Perloski, M., Lindblad-Toh, K., O'Brien, D. P., Guo, J., Katz, M. L., Johnson, G. S. 2014. Breed Distribution of *SOD1* Alleles Previously Associated with Canine Degenerative Myelopathy. *Journal of veterinary internal medicine*. 28 (2). 515-521.

Zeng, R., Farias, F. H. G., Johnson, G. S., McKay, S. D., Schnabel, R. D., Decker, J. E., Taylor, J. F., Mann, C. S., Katz, M. L., Johnson, G. C., Coates, J. R., O'Brien, D. P. 2011. A Truncated Retrotransposon Disrupts the *GRM1* Coding Sequence in Coton de Tulear Dogs with Bandera's Neonatal Ataxia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 25 (2). 267-272.

Zhang, Q., Acland, G. M., Johnson, J. L., Pearce-Kelling, S., Aguirre, G. D., Wu, W. X., Tulloch, B., Vervoort, R., Wright, A. F. 2002. Different *RPGR* exon ORF15 mutations in Canids provide insights into photoreceptor cell degeneration. *Human Molecular Genetics*. 11 (9). 993-1003.