

**Česká zemědělská univerzita v Praze**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**  
**Katedra: Obecné zootechniky a etologie**  
**Centrum pro výzkum a chování psů**



**Olfaktorický subgenom psa**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Karolína Fingerová**

**Vedoucí práce: Ludvík Pinc, Ing.**

© 2016 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Olfaktorický subgenom psa" 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 15.4. 2016

---

**Fingerová Karolína**

## ***Poděkování***

*Chtěla bych zde touto cestou poděkovat Ing. Ludvíku Pincovi za odborné vedení mé bakalářské práce.*

# Olfaktorický subgenom psa

---

## Canine Olfactory subgenom

### Souhrn

Čichový systém savců je velmi rozmanitý a dokáže rozlišit obrovské množství různých pachových molekul, které jsou navázány na příslušné pachové ligandy a detekovány čichovými receptory pomocí přenosu elektrických signálů do příslušných chemosenzorických systémů. Těmi jsou hlavní čichový epitel, vomeronasální orgán, septální orgán, Gruenebergovo ganglium a hlavní čichový kyj. Repertoár čichových receptorů je největší dosavadní známou rodinou genů u savců. U psů bylo zatím identifikováno přibližně 1094 genů olfaktorických receptorů. Když to porovnáme i s dalšími savci jako jsou například lidé, kteří mají něco málo přes 900 genů anebo s myší s necelými 1500 geny, bylo u psů identifikováno opravdu velké množství genů. Tyto geny se u psů dělí do 51 rodin a 202 podrodin a bylo identifikováno 403 psích OR sekvencí. Tyto rodiny OR genů jsou rozděleny do dvou tříd.

Z celkového počtu 1094 psích genů je 20,3% pseudogenů. Toto procento je velmi podobné u myší a potkanů, u lidí však dosahuje až 50% z celkového počtu genů. To se ukazuje jako jedna z možných příčin, proč mají lidé mnohem méně vyvinutý čichový smysl než psi. Další možnou příčinou, která by mohla odůvodnit lepší čichový smysl psů i mezi jednotlivými plemeny, je velikost čichového epitelu jako takového a počet neuronů v něm přítomných. Rozdíl v čichových schopnostech a v citlivosti u jednotlivců je možná zapříčiněn polymorfismem OR genů. Zatím byly objeveny dvě modifikace, které by mohly být příčinou, a těmi jsou nukleotidový polymorfismus v indelech a variace v počtech kopií OR genů. Při výzkumu polymorfismu bylo zkoumáno 809 haplotypů, z nich 332 bylo specifických na plemeno.

Podrobné subgenomy plemen byly zkoumány u velmi malého množství plemen. Plemena, které jsem zmínila v této rešerši, jsou: německý ovčák, belgický ovčák Malinois, anglický špringršpaněl, labradorský retrívr, greyhound, pekingský palácový psík, Korejský Jindo a boxer. Z toho Korejský Jindo je zcela unikátní svým ostrým sluchem a především čichem. Zástupci plemen se silnými čichovými schopnostmi jsou výše zmíněný německý

ovčák, belgický ovčák, anglický špringršpaněl a labradorský retrívr, naopak zástupci slabě vyvinutých čichových schopností jsou greyhound, který byl selektován především pro svou rychlost a pekingský palácový psík, který se uplatňuje pouze jako domácí mazlíček. Důležitým objevem u těchto plemen bylo objevení specifického haplotypu pro každé plemeno a tím objevení možného genetického podpisu, podle kterého lze určovat plemena.

**Klíčová slova:** Olfaktorický subgenom psa, čichový receptor, genetika, odorant, rodina genů, psí plemeno

## Summary

The mammalian olfactory system is very diverse and can distinguish a huge amount of odor molecules that are connect to relevant ligands and molecules are detected with olfactory receptors through an electrical signal to relevant chemosensory system. These are main olfactory epithelium, vomeronasal system, septal organ, Grueneberg ganglion and main olfactory bulb. The repertoire of olfactory receptors is the largest known gene family in mammals. In dogs were identified approximately 1094 OR genes and mice even less than 1500 genes. In dogs, OR genes are divided into 51 families and 202 subfamilies and it were identified 403 canine OR sequences. OR gene families are divided into two classes.

From a total of 1094 canine genes are 20, 3 % pseudogenes. This percentage is very similar in mice and rats. In humans, is up to 50 % pseudogenes of the total genes. This is one of the possible reason why people have much less developed sense of smell than dogs. Another reason that justifies a better sense of smell of dogs and differences between breeds is the size of the olfactory epithelium and the number of neurons. The difference in olfactory abilities and sensitivity between individuals is caused by polymorphism of OR genes. For now, two modifications were discovered. The first one is single nucleotide polymorphism in indels and the other one is variations in the copy number of OR genes. In polymorphism research was examined 809 haplotypes and 332 were specific to the breed.

Detailed subgenom have been investigated in a very small amount of dog breeds. In this work are mentioned these breeds: German Shepherd, Belgian Shepherd Malinois, English Springer Spaniel, Labrador retriever, Greyhound, Pekingese, Korean Jindo dog and boxer. Korean Jindo is very unique, it has a sharp sense of hearing and specifically strong sense of smell. Representative breeds with strong olfactory abilities are German Shepherd, Belgian Shepherd, English Springer Spaniel and Labrador retriever. On the other hand, dogs with weak smell are Greyhound and Pekingese. Greyhound was selected for its speed and Pekingese is primarily a pet. An important manifestation of these breeds was the discovery of a specific haplotype for each breed. This particular haplotype is perhaps unique genetic signature, which is used to determine the breeding relation.

**Keywords:** canine olfactory subgenom, olfactory receptor, genetics, odorant, family genes, dog breed

# Obsah

<b>Souhrn</b> .....	<b>4</b>
<b>Summary</b> .....	<b>6</b>
<b>OBSAH</b> .....	<b>7</b>
<b>1 ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>2 CÍL PRÁCE</b> .....	<b>9</b>
<b>3 LITERÁRNÍ REŠERŠE</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1 Detekce pachových vjemů u savců</b> .....	<b>11</b>
3.1.1 OR geny a pseudogeny .....	12
3.1.2 Hlavní čichový epitel (MOE).....	13
3.1.2.1 Topografické subsystémy MOE .....	13
3.1.2.2 Superrodina OR genů.....	14
3.1.2.3 Podrodina OR37 .....	15
3.1.3 Vomeronasální orgán (VNO).....	15
3.1.3.1 Reakce VNO neuronů s odoranty .....	17
3.1.4 Septální orgán (SO) .....	18
3.1.5 Gruenebergerovo ganglium (GG) .....	19
3.1.6 Hlavní čichový kyj (MOB) .....	20
<b>3.2 Mezidruhové rozdíly v čichu</b> .....	<b>23</b>
3.2.1 Olfaktorický subgenom psa .....	23
3.2.1.1 Mapování sekvencí OR.....	23
3.2.1.2 Repertoár čichových receptorů psa.....	24
3.2.1.3 Čichové systémy psa .....	26
3.2.1.4 Specifická interakce mezi odorantem a OR .....	27
3.2.1.5 Polymorfismus čichových receptorů u psa .....	28
3.2.1.6 Genové exprese OR.....	29
3.2.1.7 Vazebná nerovnováha (LD).....	30
3.2.2 Olfaktorický subgenom hlodavců .....	30
3.2.3 Olfaktorický subgenom člověka.....	32
<b>3.3 Meziplenenné rozdíly psích subgenomů</b> .....	<b>34</b>
3.3.1 Výzkumy zaměřené na meziplenenné rozdíly v čichu .....	36
<b>4 ZÁVĚR</b> .....	<b>40</b>
<b>5 CITOVANÁ LITERATURA</b> .....	<b>41</b>
<b>6 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A VYSVĚTLIVKY</b> .....	<b>57</b>

# 1 Úvod

Olfaktorický subgenom savců do dnešní doby prošel spoustou výzkumů a mnoha překvapujícími i očekávanými výsledky. Avšak kompletní subgenom se podařil objevit pouze u lidí, myší a potkanů, u ostatních druhů ještě nebyl prokoumán celý. Savčí OR subgenom je největší známou genovou rodinou a během evoluce se tento subgenom vyvíjel tak, aby pojal až miliony nových potenciálních odorantů. Díky výzkumu bylo identifikováno 831 OR kódujících oblastí u 24 druhů obratlovců. Díky velkému množství plemen jsou psi ideálním modelovým systémem pro zkoumání repertoáru OR genů, a tedy jsou zásadním prvkem pro pochopení čichových schopností jednotlivců stejného druhu.

Psi používají svůj čich nejenom k vyhledávání potravy, ale i k vyhledávání správného partnera či k vnitrodruhové interakci a proto je pro ně nezbytné, aby měli čich vyvinutý na co nejvyšší úrovni. Během mnoha let byli psi selektováni, aby se právě jejich čichový smysl zvětšoval a zdokonaloval, kdy díky tomuto selektování vzniklo mnoho různých plemen. Lidé mají psy nejen jako domácí mazlíčky, ale využívají je k usnadnění své práce, popřípadě k tomu, k čemu sami nestačí. Z tohoto hlediska je pro takovou činnost velmi důležitý především psí čich. Člověk využívá psy například k vyhledávání osob, výbušnin, jiných zvířat a mnoha dalším činnostem. Kromě toho studie olfaktorického subgenomu psa je velmi důležitá i pro studium lidského genomu. Obecně totiž platí, že lidé a psi mají spoustu společných civilizačních chorob, které se projevují velmi podobně nebo zcela totožné. Proto studium psů může pomoci odhalit původ těchto nemocí, jako jsou například různé druhy anosmií.



## **2 Cíl práce**

Cílem této práce je provést odbornou analýzu zvoleného tématu a na základě této analýzy vypracovat literární rešerši, která by shrnovala současné poznatky o olfaktorickém genovém repertoáru psa a porovnat ho s jinými živočichy.

### 3 Literární rešerše

Savcům se vyvinul velmi sofistikovaný systém několika smyslů pro vnímání okolního světa. Nejvíce se jim však vyvinul systém na rozpoznávání pachových molekul, díky nimž dokázali rozpoznat nebezpečí, nalézt partnera nebo potravu. Nejzajímavější pro nás jsou v tomto ohledu psi. Psi byli domestikováni z vlků a od té doby si prošli rozsáhlým chovem a selekcí. Z tohoto dlouhodobého procesu vzniklo přibližně 400 různých plemen, z kterých se vyvinula i plemena zaměřená speciálně na lov a pro která čich hraje hlavní roli. Schopnost psů rozeznávat pachové molekuly a postupně je zpracovávat jen za pomoci několika málo mozkových funkcí je ohromující. Účinná vazba pachové molekuly na daný soubor čichových receptorů je prvním krokem v daném procesu (Robin et al., 2009, Clutton-Brock, 1995, Savolainen et al., 2002, Vila et al., 1997). Jedním z průlomů ve výzkumu čichu jako takového byl rok 1991, kdy Linda Buck a Richard Axel publikovali svůj článek o rozpoznávání pachových vjemů a tím otevřeli cestu novým zkoumáním čichového ústrojí.

První živočich, u kterého byly zkoumány čichové receptory, byl hlodavec a to již okolo roku 1970. Tyto geny olfaktorických receptorů byly objeveny a identifikovány použitím degenerovaných primerů, které se shodují s aminokyselinami, které obsahují receptory spojené s G-proteiny (Buck et al., 1991). Od té doby se tyto primery používaly na identifikaci genů olfaktorických receptorů u několika dalších živočišných druhů včetně psů (Issel-Tarver et al., 1996, Quignon et al., 2003).

Xu et al. (2005), ve svém výzkumu uvádí, že se vyskytují u savců dva čichové systémy. Těmi jsou hlavní čichový systém a přídatné čichové systémy. Tyto systémy se skládají z několika struktur, které jsou od sebe anatomicky oddělené. Původně se myslelo, že hlavní čichový systém detekuje pachové molekuly a přídatné systémy jsou zodpovědné za detekci feromonů.

Avšak v roce 2006 pan Breer a kolektiv určili, že čichový systém savců není rovnoměrně organizovaný, ale skládá se z několika subsystémů, z nichž každý má pravděpodobně jinou funkci. Těchto chemosenzorických systémů je pět. Dva hlavní, těmi jsou vomeronasální orgán a hlavní čichový epitel. Ty jsou od sebe strukturálně i funkčně

oddělené, ale jsou dále přerozděleny do překrývajících se zón a souvisejících podzón. Dalšími systémy pak jsou septální orgán Gruenbergerovo ganglium, které však u psů chybí a nakonec čichový kůj (Breer et al., 2006).

### **3.1 Detekce pachových vjemů u savců**

Čichový proces jako takový se skládá z několika kroků od vnímání vůně až k jejich identifikaci. Vzduch a aromatické látky při nadechování prochází nosní dutinou, nosními skořepky a skořepky, které jsou pokryté vodnatým hlenem. Nos může sloužit jako plynový chromatograf, neboli vdechované pachové molekuly mohou být selektivně absorbovány z respiračního proudění vzduchu (Kent et al., 1996, Schoenfeld a Cleland, 2005).

K prvnímu kroku čichového procesu dochází v nosní dutině, kde se nachází specifické čichové receptory, které se nazývají olfaktorické receptory ve zkratce OR, které zachycují pachové molekuly (Sharon et al., 1998, Quignon et al., 2012). Tyto pachové molekuly migrují nosem odlišně podle jejich relativní nasákavosti. Hydrofilní molekuly se vyskytují ve větší míře než hydrofóbní molekuly. Díky tomu se proud vzduchu nejprve přibližuje k dorzální oblasti nosní dutiny. V této oblasti se nejvíce setkávají nasákavé hydrofilní pachové látky. OR v této dorzální zóně zahrnují všechny staré fylogenetické receptory I. třídy, které se nacházejí u vodních obratlovců, jako jsou ryby a obojživelníci (Freitag et al., 1995, Zhang et al., 2004b). Po zachycení molekuly na čichových smyslových neuronech ve zkratce OSN, které leží v olfaktorickém epitelu, je chemický signál převeden na signál elektrický a ten je dále přenášen na olfaktorický kůj v mozku (Sharon et al., 1998, Quignon et al., 2012). Pachové molekuly jsou detekovány čichovými receptory, které patří do skupiny G – protein receptorů. Tyto receptory obsahují 7 transmembránových domén (Buck et al., 1991; Lee et al., 2013).

Savčí olfaktorické orgány dokáží rozpoznat a rozlišit velké množství pachových molekul nebo též odorantů. Bohužel vztah mezi molekulární strukturou a rozlišením charakteristické vůně je stále záhadou, ačkoliv již vzniklo několik teorií, které se snaží tento problém vysvětlit. Jednou z těchto teorií je tzv. Vibrační teorie, podle které čichové receptory obratlovců detekují aromatické látky podle jejich molekulární vibrace. Tato teorie spočívá v tom, že olfaktorické receptory se chovají jako biologický spektrometr a reagují na ligandy vibrující v určité frekvenci (Dyson, 1938). Tuto teorii rozšířil Turin v roce 2002 a díky němu vznikla Spektroskopická teorie, která říká, že olfaktorický systém funguje na principu

neelastického elektronového tunelování, kdy na sebe působí elektrony, které se protunelovávají mezerou mezi dvěma kovovými elektrodami.

Další teorií je teorie Odotopová, při které rozpoznání pachových molekul funguje díky přidružení pachového ligandu ke specifickému čichovému receptoru v čichových sensorických neuronrech (Buck et al., 1991). Jaká z těchto teorií je ta správná nebo zda existuje zcela jiná, která by vysvětlila všechny aspekty, nebylo zatím dokázáno.

### **3.1.1 OR geny a pseudogeny**

Savčí OR geny jsou složeny ze dvou exonů. Jeden z těchto exonů zahrnuje všechny oblasti, které kódují proteiny. Tyto oblasti zahrnují okolo 1000 nukleotidů (Asai et al., 1996, Walensky et al., 1998). OR receptory patří do skupiny G-protein receptorů (GPCR). Aby bylo možné rozeznat několik stovek pachových molekul, obsahují OR variabilní domény, které jsou umístěny na třetí, čtvrté a páté transmembránové doméně (Katada et al., 2005). Každý OR gen je exprimován pouze jednou ze čtyř čichových zón olfaktorického epitelu (Ressler et al., 1993) a každý neuron v čichové zóně je exprimován pouze jednou alelou (Chess et al., 1994) z jednoho OR genu (Malnic et al., 1999, Ngai et al., 1993). Malá velikost OR genů a jejich specifické vzory umožňují jejich jednoduchou a snadnou identifikaci. Využívány jsou metody prosté těžby genomu za použití metody BLAST, neboli použití srovnávacího algoritmu primárních sekvenčních informací, nebo nástrojů na rozpoznávání vzorů. Identifikace OR repertoáru u několika živočišných druhů ukázala, že OR geny představují největší dosavadně známou rodinu genů u savců (Sharon et al., 1998).

Pseudogeny jsou geny, které během evoluce pozbyli své funkce a jsou neaktivní. OR pseudogeny obsahují jednu až několik mutací. Při zkoumání pseudogenů u lidí a psů v jejich celkovém genomu, se u sekvencí s jednou mutací našlo až 30 % pseudogenů. U sekvencí se dvěma a více mutacemi bylo nalezeno až 97 % pseudogenů. Avšak konzervativní odhad počtu pseudogenů pouze u genů OR je 177, tedy přibližně 18 %. Tyto OR sekvence, které byly zkoumány na přítomnost mutací, představují pouze polovinu kompletního otevřeného čtecího rámce (ORF) (Quignon et al., 2003).

### 3.1.2 Hlavní čichový epitel (MOE)

U savců hlavní čichový epitel (MOE) můžeme nalézt na části nosní přepážky a zasahuje až do čelních dutin. Hlavní čichový epitel obsahuje několik milionů čichových smyslových neuronů (OSN). Tyto bipolární smyslové buňky se prodlužují do jednoho dendritu na epiteliálním povrchu a nesou četné dlouhé řasinky vložené do nosní sliznice, a poskytují tak rozsáhlou plochu pro interakci s aromatickými látkami. Řasinková membrána obsahuje receptorové proteiny (Strotmann et al., 2004) a prvky čichového transdukčního stroje (Menco et al., 1992), což činí tato buněčná oddělení chemosenzorická, čili vnímavá na chemické podněty. V tomto epitelu jsou receptory různých druhů GPCR (Buck a Axel, 1991). Každý OR interaguje s širokou škálou chemických sloučenin, i když s různou afinitou. Může se tedy stát buď že jeden OR rozpozná více odorantů nebo jeden odorant může být rozpoznán různými typy OR. Tato kombinační strategie se používá ke kódování pachových vlastností (Malnic et al., 1999, Buck, 2004).

Všechny OSN, které jsou exprimovány stejnými OR, posílají své axony do společných glomerulů v hlavním čichovém kyji (MOB). Glomeruly jsou neuropilové sítě vzájemně synapticky působící mezi axonálními koncovkami OSN a dendritickými stromy čichového kyje projekčních neuronů. Jsou považovány za moduly reprezentace a zpracování smyslových vlastností (Mori et al., 1999, Araneda et al., 2000).

#### 3.1.2.1 Topografické subsystémy MOE

Původně se myslelo, že je hlavní olfaktorický epitel rozdělen do několika dobře ohraničených rostrálních nebo kaudálních zón (Ressler et al., 1993, Vassar et al., 1993, Strotmann et al., 1994). Nedávné studie však ukázaly, že buňky exprimující OR jsou organizovány v překrývající se zóně a OR jsou průběžně seřazeny podél centrální osy do periferní osy epitelu (Iwema et al., 2004, Miyamichi et al., 2005). Každá z těchto zón lze dále rozdělit na buňky exprimované stejnými OR náhodně rozmístěnými v určité oblasti, ale ve skutečnosti, pokud jde o jejich projekci do kyje, mohou být rozděleny do mediální a laterální subpopulace, které se sbíhají odděleně na mediálních a laterálních glomerulech (Levai et al., 2003, Schoenfeld et al., 1994). Funkční důsledky topografického rozložení vzorů pro definované skupiny receptorových typů nejsou stále známy (Cutforth et al., 2003).

### 3.1.2.2 Superrodina OR genů

Savčí OR subgenom je největší známá genová rodina, která byla během evoluce rozšířena o potřebu zajistit dostatečnou kapacitu pro rozpoznávání milionů potenciálních odorantů. Glusman et al. v roce 2000 identifikovali kódující OR oblasti z publikovaných sekvencí. Identifikovali 831 kódujících OR oblastí (včetně pseudogenů) u 24 druhů obratlovců. Výsledky poté rozdělili do 32 odlišných rodin, z nichž 14 zahrnuje pouze geny druhu tetrapoda (ty patří do nejvzdálenějšího regionu II. třídy) a tím tak předělali rozdělení pánů Laceta a Ben-Arieho z roku 1993, kteří OR rozdělovali jen do osmi rodin. Analýza, kterou Glusman et al. provedli (2000), ukázala, že dříve měli savci malý repertoár OR, který se nezávisle rozšířil ve všech třech podtřídách savců. I. třída OR označována jako „rybí“ naznačuje, že některé z těchto dávných OR oblastí byly udržovány, a dokonce rozšířeny i u savců. Glusman et al. (2000) též navrhli systém označování genových superrodin OR na základě odchylky evolučního modelu. Názvosloví se skládá z kořene „OR“, po ní následuje číslice rodiny, poté písmeno podrodiny (s) a nakonec číslice představující jednotlivé geny v rámci podrodiny. Například OR3A1, OR je gen 3. rodiny, podrodiny A, nebo druhý příklad OR7E12P je OR pseudogen rodiny 7, podrodiny E. Symbol má předcházet indikátor druhu (Glusman et al., 2000).



Obrázek 1 : Schéma tvorby nomenklatury genu čichového receptoru (Glusman et al., 2000).

### 3.1.2.3 Podrodina OR37

Malá skupina OR genů, podrodina OR37 je jedinečná díky řadě speciálních funkcí. Členové této podrodiny se výlučně nacházejí u savců, kteří sdílejí vysoký stupeň sekvenční homologie a jsou vysoce konzervovány v průběhu evoluce (Bautze et al., 2012). Tato skupina je charakterizována vložением šesti aminokyselin do třetí extracelulární smyčky (E3 -smyčka) (Strotmann et al., 1999, Strotmann et al., 1992). Rozšířené smyčky v OR37 receptoru mají vysoký obsah nabitých aminokyselin, které se nacházejí zejména na jedné straně DNA šroubovice (Kubick et al., 1997). Unikátní struktura OR37 naznačuje speciální vyladění na pachové ligandy. Srovnávací analýzy ukázaly, že tyto orthologní receptory se vyskytují u různých druhů savců, jako je například myš, pes, slon a primáti (Hoppe et al., 2006). U lidí tato skupina receptorů existuje s výjimečně vysokým podílem potenciálně funkčních genů, která je však v rozporu se všeobecným trendem pseudogenizace (druh genové duplikace) OR genů u lidí (Breer et al., 2006)

Když srovnáme napříč všemi druhy OR37 receptory, ukazuje se vysoký stupeň zachování. Tyto geny jsou pod negativním selekčním tlakem, což je další rys, který je velmi neobvyklý pro OR geny, které spadají obecně pod Darwinovu pozitivní selekci (Ngai et al., 1993, Gilad et al., 2000, Hughes, 1993, Hughes et al., 1993). Pozitivní výběr je myšlenka, která upřednostňuje diverzifikaci a tím i variabilitu receptorových typů, zatímco negativní selekce u OR37 receptorů podporuje akorát jejich ochranu, což nám napovídá, že se jedná o speciálně laděné receptory. Rozmanitost v nekódujících sekvencích ukazují na dlouhou koexistenci těchto genů. Afylogenetická analýza prokázala, že OR37 geny existovaly již u „dávnych“ savců, jako například vačice (Hoppe et al., 2006).

### 3.1.3 Vomeronasální orgán (VNO)

Většina savců má dobře vyvinutý vomeronasální systém, který je obvykle považován za specializovaný orgán na zpracování informací z feromonů (Dulac a Torello, 2003). Především psi, jejichž předci žili ve skupinách a jsou velmi sociální, jsou známí používáním pachu k vnitrodruhové interakci, která by mohla zahrnovat komunikaci pomocí feromonů (Quignon et al., 2006, Young et al., 2005). VNO je slepě končící, hlenem naplněná trubice v nosní přepážce se smyslovým epitelem ve tvaru měsíčního srpku. Velké cévy VNO běží laterálně do lumenu (Doving a Trotier, 1998; Halpern a Martinez-Marcos, 2003). Neboli VNO

je umístěn ve spodní části nosní přepážky a je oddělen od čichového epitelu. Epitel VNO se skládá ze tří typů buněk, podobných těm, které se nacházejí v hlavním čichovém epitelu. Předpokládá se, že tyto receptory ležící na povrchu neuronů se vážou na feromony a jsou nazývány jako vomeronasální receptory (VR) (Dulac et al., 1995). VNO je tedy považován za „specializovaný nos“ vyladěný na detekci signálů, které jsou vysílány jinými zvířaty a zprostředkovává specifické informace o druhu, pohlaví a identitě. Vyvolává vrozené chování jako je agrese a páření (Keverne, 1999; Zufall et al., 2002; Dulac, 2000). Chemické signály z prostředí dosahují lumenu VNO pomocí cevního čerpacího mechanismu přes řezákový kanál, který ústí do nosní dutiny (Meredith, 1994). Tento mechanismus také umožňuje VNO získat relativně netěkavé sloučeniny (Breer et al., 2006).

Vomeronasální sensorické neurony mohou být rozděleny do dvou subpopulací uspořádaných v jednotlivých vrstvách vomeronasálního epitelu. Těmi jsou V1R a V2R receptory. V1R receptory jsou promítány do přední části přídatného čichového kyje. Zatímco V2R receptory se promítají na zadní část přídatného čichového kyje (Dulac a Torello, 2003). Buňky s V1R receptory jsou citlivé na malé hydrofóbní molekuly, jako jsou těkavé aromatické látky, například různé složky moči. Tyto buňky jsou extrémně citlivé (Leinders-Zufall et al., 2000) a výrazně se liší od sensorických neuronů hlavního čichového systému právě svou citlivostí, kdy neurony hlavního čichového epitelu jsou mnohem méně citlivé a obvykle reagují se širokou škálou odorantů (Dulac et al., 2003).

V2R receptory exprimované sensorickými buňkami v bazální vrstvě se výrazně liší od V1R receptorů. V2R receptory obsahují velkou N-koncovou doménu, která je předpokládaným vazebným místem vzniku ligandu (Martini et al., 2001). Studie ukazují, že V2R buňky reagují na proteinové složky (Krieger et al., 1999; Leinders-Zufall et al., 2004). Axony neuronů jak V1R, tak i V2R jsou seskupeny do vomeronasálního nervu, který vede do čichového kyje. Sekundární neurony čichového kyje předávají informace přímo do mozečku, aniž by byl signál předem zpracován v kortexu, tím pádem nejsou údaje ze signálu ošetřeny vědomě a nejsou tedy upravovány (Dulac et al., 2003).

Rodina V1R je tvořena proteinovými receptory, které kódují více exonových genů s kódujícími oblastmi v jednom exonu jako u OR (Dulac et al., 1995), ale bez sekvenční podobnosti s OR geny. Oblast kódující V2R geny je tvořena několika exony kódující dlouhé extracelulární N-terminální domény a jeden exon kódující oblast se sedmi



transmembránovými doménami (Yang et al., 2005, Young et al., 2005). Studie genu V1R ukázaly na velké rozdíly v počtech těchto genů u savců s funkčním VO. Studie byly provedeny u hlodavců, primátů a psů (Grus et al., 2005, Young et al., 2005, Rodriguez, 2005).

### 3.1.3.1 Reakce VNO neuronů s odoranty

Z několika důkazů vyplývá, že vomeronasální systém může také reagovat s obecnými těkavými aromatickými látkami stejně rychle jako hlavní čichový systém. První analýzy reakcí sensorických buněk VNO ukázaly, že malé množství buněk izolovaných z VNO specificky reagují na těkavé sloučeniny, které vyvolávají charakteristické vůně (Sam et al., 2001). V dalších studiích analyzovali myši s nefunkčním hlavním čichovým systémem tím, že způsobili vypnutí ACIII (Wong et al., 2000), a bylo zjištěno, že tyto myši stále reagují na zvláštní aromatické látky (Trinh a Storm, 2003). Toto pozorování vedlo vědce k myšlence, že ACIII je nezávislá na detekci odorantů a detekce může být prostřednictvím VNO. Ve skutečnosti však bylo prokázáno, že pachové látky vyvolávají elektrické odezvy ve smyslovém epitelu VNO. Z těchto údajů se došlo k závěru, že kromě hlavního čichového epitelu mohou mít schopnost detekovat a zpracovávat pachové informace i další části čichového systému. (Trinh a Storm, 2003). Avšak molekulární základ pro rozeznání odorantů sensorickými buňkami VNO není stále znám. Spekulovalo se, že pachové látky mohou být aktivovány některými VNO buňkami prostřednictvím jejich V1R nebo V2R, nicméně tento pohled na věc by znamenal, že pachové stimuly jsou zpracovávány jako feromonové látky, které jsou detekovány příslušnými receptory. Ve studii Trinh a Storma (2003) je uvedeno, že potravinové odoranty jsou rozpoznány jako takové a vyvolávají odpovídající chování. Tato pozorování naznačují, že by mohly existovat odlišné subpopulace smyslových buněk ve VNO, které jsou speciálně vyladěné pro odpověď na aromatické látky. Nedávná in situ hybridizace a analýza transgenních myších linií poskytly důkaz, že třetina populace smyslových neuronů ve VNO, exprimované podtypy OR, jsou současně exprimovány v MOE (Levai et al., 2006). Neví se však, jestli se jedná o VNO buňky exprimující OR, nebo typické MOE buňky neobvykle situované ve VNO. Když uvažíme čichové neurony v MOE, které exprimují odlišný typ OR v glomerulech v MOB, objevuje se otázka, zda existují buňky exprimující stejný typ OR, ale jsou „ztraceny“ ve VNO, a jestli mohou také promítat jejich axony do specifických receptorů v glomerulech. Analýza transgenních myší, která umožňuje vizualizaci OR a jejich axony odhaluje, že označená nervová vlákna z VNO nezasahují do MOB, ale končí v přední části

čichového kyje. To naznačuje, že určité aromatické látky mohou být zpracovány jinak, a to jak pachy, tak i feromony (Levai et al., 2006).

### **3.1.4 Septální orgán (SO)**

Jako první objevil septální orgán Broman v roce 1921 u novorozenech myší. Později se na něj zaměřil Rodolfo-Masera roce 1943 a poté byl znám jako Maserův orgán. Septální orgán (SO) je chemosenzorický systém, který reaguje na široké spektrum pachových podnětů (Marshall a Maruniak, 1986). Septálním orgánem se myslí ostrůvek smyslového epitelu na stranách nosní přepážky (Breer et al., 2006), na tomto místě byl nalezen díky pokusům s obarvením čichové tkáně fluorescenčním činidlem (Kaluzka et al., 2004). Molekulární fenotypy a projekční vzory smyslových buněk v SO podporují názor, že „ostrov“ smyslového epitelu na nosní přepážce není jen ektopická plocha MOE nebo VNO, ale spíše samostatný a jedinečný chemosenzorický subjekt. Díky své strategické poloze se SO perfektně hodí k určování vzorků pachových látek z ústní dutiny (Breer et al., 2005, Breer et al., 2006).

Smyslový epitel septálního orgánu se zdá velmi podobný hlavnímu čichovému epitelu. Skládá se z OSN a bazálních a podpůrných buněk, ale obsahuje pouze jednu až tři vrstvy sensorických neuronů (Schoenfeld et al. 1994; Weiler a Farbman, 2003). Za účelem odhalení molekulárního základu chemické citlivosti septálního orgánu byly provedeny pokusy na identifikaci receptorových buněk SO (Breer et al., 2006). Experimenty a testy DNA vedly k identifikaci 50-80 OR typů septálního orgánu (Kaluzka et al., 2004; Tian a Ma, 2004). Třídění OR septálního orgánu ukazuje, že se jedná výlučně o II. třídu OR, které patří do různých rodin. Avšak OR I. třídy nebyly nalezeny. Od některých menších rodin je více než třetina členů exprimována v SO, zatímco zvláště u velké rodiny je v SO přítomen pouze jeden člen OR (Kaluzka et al., 2004). Tato pozorování naznačují, že volba typu OR z velkého repertoáru neuronů SO není náhodná. Všechny OR geny exprimované v SO se také nachází v MOE, zvláště v mediální nebo laterální zóně nosního neuroepitelu (Kaluzka et al., 2004; Tian a Ma, 2004).

Pokud jde o axonální přípojky neuronů SO do čichového kyje, dřívější studie prokázaly, že axony ze SO jsou organizovány pouze ve dvou svazcích, které zůstávají oddělené od svazků axonů pocházející z VNO nebo z MOE (Pederson a Benson 1986). Svazky vláken SO vstupují do hlavního čichového kyje na mediální straně. Jedna větev se otáčí

směrem k ventrálnímu povrchu čichového kyje, kde se tlustý svazek rozvětňuje do malých větví končící v glomerulech. Tyto glomeruly mají v průměru okolo 70-100  $\mu\text{m}$  a nachází se v malé oblasti hlavního čichového kyje. Počet glomerulů se pohybuje mezi čtyřmi až šesti. Druhá větev zůstává na mediální straně hlavního čichového kyje, kde se svazky rozvětví a tvoří husté pletivo z velmi tenkých vláken. Okolo 30 glomerulů má nápadný počet vláken SO, ty jsou seskupeny do ventro-mediálního povrchu hlavního čichového kyje. Okolo 150 glomerulů má pouze jeden nebo nanejvýš několik vláken SO, které vykazují rozsáhlé větvení. To znamená, že u drtivé většiny glomerulů, která získává informace od SO, se zdá, že má smíšený fenotyp, to znamená, že dostávají hlavní přísun informací od MOE a v různém rozsahu i od SO. Několik glomerulů se zdá být odlišných, a to v tom, že přijímají signál výhradně od SO, a tak se jim říká septální glomeruly (Breer a Strotmann, 2005).

### **3.1.5 Gruenebergerovo ganglion (GG)**

Ve studii, která zkoumala nosní žlázy, objevil Grueneberg (1973) tzv. ganglion neznámé funkce, který se nacházel bilaterálně v rostro-dorzální části nosní dutiny v rozích tvořenými septem a nosním patrem. Neuronální buňky ganglia tvoří malé skupinky větších shluků a jsou doprovázeny satelitními buňkami (Grueneberg, 1973). Ganglion byl původně považován za součást terminálního nervu (označovaného číslem 0), nicméně absence hormonu uvolňujícího luteinizační hormon (LHRH) (Fleischer et al., 2006) a absence charakteristického znaku terminálního nervu (Schwanzel-Fukuda a Silverman, 1980; Schwanzel-Fukuda a Pfaff, 2002) argumentují proti příslušnosti Gruenebergova ganglia (GG) do terminálního nervu (Koos a Fraser, 2005; Fuss et al., 2005). Na druhou stranu GG buňky postrádají některé typické znaky dalších chemosenzorických buněk, jako jsou například řasinky nebo mikrovlnky. Avšak ultrastrukturální analýzy ukázaly přítomnost několika modifikovaných řasinek (Tachiba et al., 1999). Ačkoliv chemosenzorické stimuly pro GG buňky jsou pro nás stále záhadou, spekuluje se, že ganglion může přijímat plynné podněty, jako je kyslík, nebo může obdržet podnět přímým kontaktem se zdrojem (Koos a Fraser, 2005).

GG je zjevně spojeno se dvěma různými typy nervových vláken: aferentní (senzorická, dostředivá) a eferentní (motorická, odstředivá) vlákna, ta rostou přímo z centrálního nervového systému během embryogeneze. V průběhu embryonálního vývoje začíná tvorba GG, když eferentní nerv dosáhne oblasti předpokládaného GG, což vede

k hypotéze, že eferentní vlákna mohou vyvolat vznik GG (Grueneberg, 1973). Během jejich postupu, eferentní a aferentní vlákna se střídají a promítají se kaudálně podél dorzální části septa. Když dosáhnou úrovně MOE, spojí se s čichovými axony pocházejícími z MOE, takže je obtížné sledovat je dále (Grueneberg, 1973). Z každého neuronu GG se vynořuje axonální vlákno na náhodném místě (Tachiba et al., 1990) vyčnívající v kaudálním směru. Svazky axonů pronikají řešetnou ploténkou, dosahují hlavního čichového kyje a končí v kaudální části. Tyto nervy inervují skupinu deseti glomerulů v oblasti tzv. „náhrdelníku glomerulů“ (Fleischer et al., 2006; Fuss et al., 2005; Koos a Frazer, 2005). Tyto axony vystupující v oblasti „náhrdelníku glomerulů“ čichového kyje jsou aktivní v průběhu kojení, bylo navrženo, že GG se může podílet na detekci důležitých podnětů pro novorozence (Koos a Fraser, 2005; Fuss et al., 2005). Vzhledem k velmi přední poloze GG se zdá více pravděpodobné, že buňky mohou sloužit k detekci chemických složek s omezenou těkavostí nebo k detekci takových látek, které vyžadují rychlé odhalení (Fuss et al., 2005).

### **3.1.6 Hlavní čichový kyj (MOB)**

Hlavní čichový kyj je prvním místem, kde se čichové informace v mozku zpracovávají. Typický čichový kyj (OB) obsahuje 2000 glomerulů až 80 typů. Z těchto 80 je 22 rozpoznatelných podle charakteristické pozice a morfologie (Friedrich et al., 1997, 1998, Buck, 2004). Axony neuronů čichového kyje projektují vzruch do subkortikálních a kortikálních oblastí, kde dochází k vyšší úrovni zpracování čichových informací a kde dochází k rozlišování pachů v mozku (Buck et al., 1991). Lokální nervové obvody v kyji zprostředkovávají laterální inhibici mezi moduly glomerulů a zaostřují ladění na specifické výstupní neurony. Také zprostředkovávají synchronizované oscilační výboje mezi specifickými kombinacemi výstupních neuronů (Mori et al., 1999).

Pomocí nepřímé hybridizace a přímým axonálním značením bylo odhaleno, že OSN promítají své axony do několika společných glomerulů v olfaktorickém kyji (Ressler et al., 1994, Vassar et al., 1994, Mombaerts et al., 1996, Zheng et al., 2000). A díky výsledkům při obarvení buněčných těl axonů jednotlivých OSN exprimující dané OR pomocí beta-galaktosidázy se podařilo zjistit, že OR hrají roli při řízení signálu mezi axonem a příslušným glomerulem v čichovém kyji (Mombaerts et al., 1996, Wang et al., 1998, Rodriguez et al., 1999). Koncept glomerulů jako konvergentního místa axonových výstupků exprimující OSN

daného OR podporuje model čichového kódování, ve kterém je kvalita pachu kódována specifickou kombinací aktivního glomerulu (Mori et al., 1999). Stálost glomerulárního pole se nejlépe analyzuje stanovením relativní polohy glomerulů a jednoho axonu ve velkém počtu kyjů (Rodriguez et al., 1999).

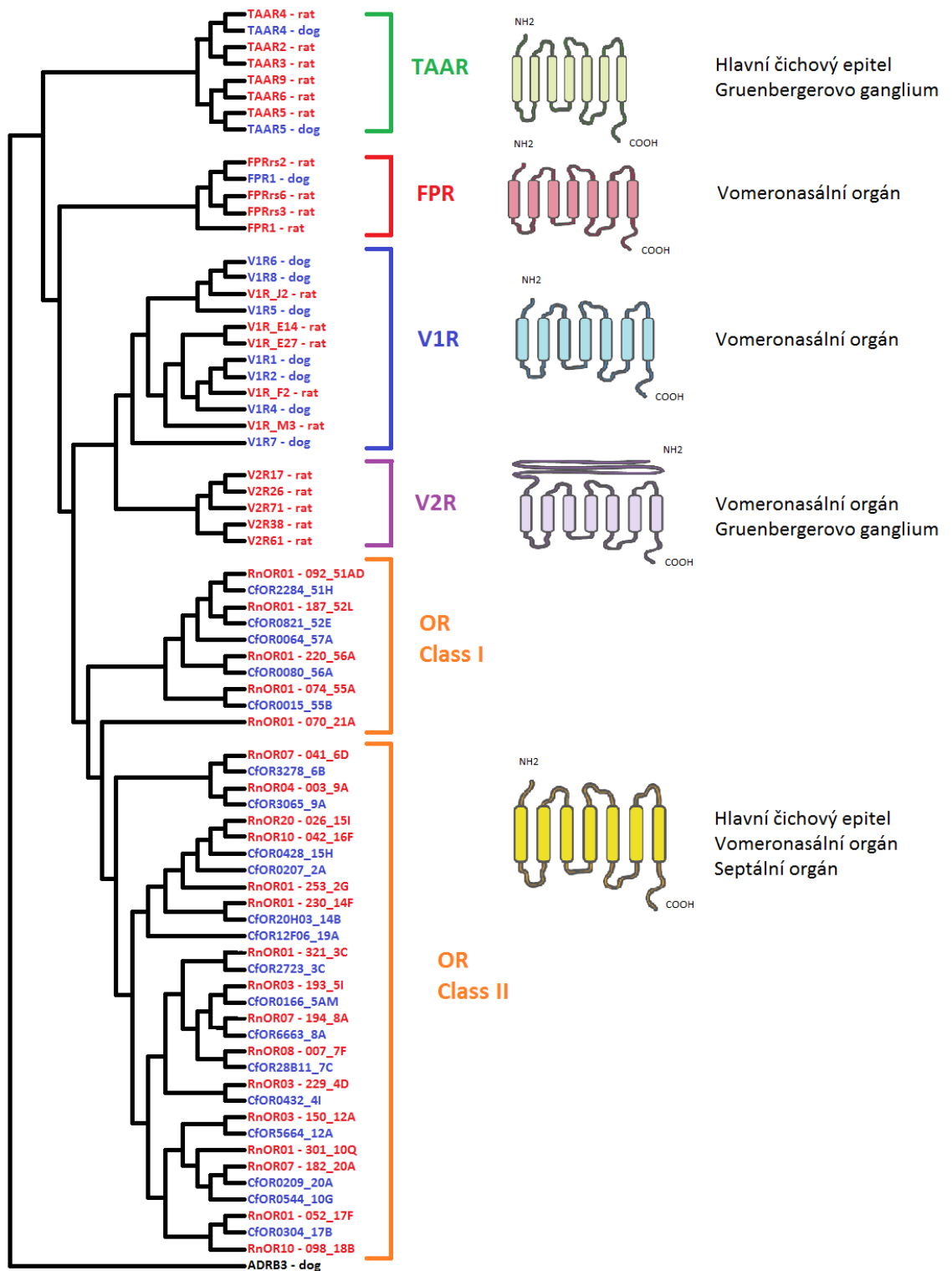
Pozice specifických OR glomerulů v rámci čichového kyje je velmi významná. Například mOR37 glomeruly jsou seskupeny v rámci definované domény MOB, která odhadem zahrnuje 30 z 2000 glomerulů, to je pouhé 1,5% procento z celkové plochy povrchu. Je důležité si uvědomit, že pokud se olfaktorické kyje porovnají, glomerulární oblast není zkreslena, ale je nově uspořádaná, pokud se zkoumá ve větším detailu (Strotmann et al., 2000).

Vývojové mechanismy, které řídí konvergenci axonů, mohou být pravděpodobně základem lokální permutace. Jedním z možných výkladů je, že během vývoje OSN axony exprimující daný OR mohou zasahovat do poměrně široké oblasti OB a mísí se s OSN axony exprimující jiné OR. Nejdůležitější důsledek lokálních permutací je v jejich praktické povaze. Dřívější metody používané k popisu čichových map nejsou prováděny v rozlišovacím měřítku, které by mohlo omezovat lokální permutace (Buck, 1996). Sestavování funkčního atlasu týkajícího se konkrétního glomerulu, OR a pachových ligandů je do budoucna možným řešením rozluštění čichového kódování (Strotmann et al., 2000).

#### Porovnání chemosenzorických receptorových genů u savců.

Typ receptoru	Místo výskytu (u myši)	Geny u lidí	Pseudogeny u lidí (v %)	Geny u savců (rozsah)	Pseudogeny u savců (rozsah v %)	Ligandy
OR	Čichový epitel (nejvíce OSN) Septální orgán (nejvíce OSN) Vomeronazální orgán (málo OSN)	960	51	700 - 1518	15 - 78	Různorodé aromatické látky • Hlavní pachové molekuly • Feromony
V1R	Vomeronazální orgán Čichový epitel (u lidí málo OSN)	117	96	65 - 849	50 - 100	Různorodé aromatické látky • Hlavní pachové molekuly • Feromony
V2R	Vomeronazální orgán (hlavní výskyt) Gruenbergerovo ganglium (V2r83, nejvíce OSN)	20	100	10 - 283	48 - 100	Různorodé nearomatické feromony • MHC peptidy • MUP • ESP
TAAR	Čichový epitel (málo OSN) Gruenebergerovo ganglium (málo OSN)	6	0	3 - 22	Velmi nízké %	Aromatické aminy

Tabulka 1: Porovnání chemosenzorických receptorových genů u savců a člověka (Keller et al., 2008)



Obrázek 2: Strom proteinových sekvencí rozdílných čichových receptorů. Psí proteinové sekvence jsou označeny modře, proteinové sekvence potkanů jsou červené (Quignon et al., 2012).

## 3.2 Mezdruhové rozdíly v čichu

### 3.2.1 Olfaktorický subgenom psa

Správné umístění psa do savčího evolučního stromu poskytuje důležitý vhled i do genomu lidského (Lindblad-Toh et al., 2005). Studie genomu psa domácího je velmi důležitá nejenom pro biology a chovatele zvířat, ale také pro vědce a lékaře. Psi a lidé mají mnoho společných onemocnění, včetně rakoviny, epilepsie, šedého zákalu, cukrovky, slepoty, onemocnění srdce, dysplazie kyčelního kloubu, hluchoty a dalších (Ostrander et al., 2000, Patterson, 2000). Klinické projevy těchto chorob u lidí a psů jsou často velmi podobné (Sargan, 2004). Mezi různými znaky, které byly lidmi vybrány u psů, byl čich asi ten nejdůležitější (Quignon et al., 2012). Čichové schopnosti jsou u každého plemene, a dokonce i u jednotlivců různé. Některá psí plemena s dobře vyvinutým čichem, jako jsou například lovecká plemena jsou lidmi využívána v mnoha odvětvích a profesích. Například jsou využívána k hledání výbušnin a drog, lanýžů, ztracených osob, lidských ostatků („psi specializovaní na hledání kadáverů“) a dokonce i rakoviny (Furton et al., 2001, Quignon et al., 2012). Psi jsou schopni detekovat lidské zhoubné nádory, jako je melanom (Church et al., 2001, Williams et al., 1989), nádor močového měchýře (Willis et al., 2004) a nádor plic a prsou (Cornu et al., 2010, McCulloch et al., 2006). Psi trénovaní na detekci těchto chorob představují nový doagnostický nástroj v medicíně (Robin et al., 2009, Tacher et al., 2005).

#### 3.2.1.1 Mapování sekvencí OR

Ještě v roce 1997 bylo identifikováno jen 21 psích OR sekvencí, které byly uschovány v genové bance (Parmentier et al., 1992, Vanderhaeghen et al., 1997, Issel-Tarver et al., 1996). Dvanáct z těchto sekvencí bylo nalezeno v čichovém epitelu (Parmentier et al., 1992, Issel-Tarver et al., 1996) a dalších devět u psích varlat (Parmentier et al., 1992, Vanderhaeghen et al., 1997). K roku 2003 bylo identifikováno 817 nových psích OR sekvencí. Z nich 180 bylo izolováno PCR skenováním psí genomové DNA s degenerovanými oligonukleotidy a 637 bylo získáno z 1,2krát sekvenovaného sestaveného psího genomu. Tedy k roku 2003 bylo objeveno 838 psích OR genů. Tyto psí OR sekvence jsou rozloženy do 24 z 40 skupin. Tři skupiny a 11 OR sekvencí nebyly přiřazeny k žádnému chromozomu a osm OR markerů zůstalo nepropojených. Mapované OR geny jsou distribuovány skrze 37 chromozomálních oblastí, 33 shluků tvořených z 2 - 124 genů a čtyř izolovaných OR genů.

Dva psí chromozomy 17 a 29 obsahují pouze jeden OR gen, 20 psích chromozomů obsahuje 3 až 65 OR genů, zatímco chromozomy 18 a 21 obsahují dokonce 124 a 109 OR genů, a tím představují dva největší shluky OR genů v psím genomu. Tyto dva chromozomy samy obsahují 41% mapovaných OR sekvencí psa (Quignon et al., 2003).

### 3.2.1.2 Repertoár čichových receptorů psa

Repertoár psích OR byl identifikován použitím modelu na rozpoznávání neroztříděných sekvencí psiho genomu (Quignon et al., 2005). Skládá se z 1094 genů, z kterých 20,3% jsou pseudogeny, které obsahují jednu nebo několik nesmyslných mutací nebo vložených/vymazaných částí bází v DNA (indelů), které vedou k přerušení čtecího rámce, neboli ORF. Tento poměr pseudogenů je srovnatelný u myši a potkanů, u lidí je však mnohem vyšší - až 50% (Glusman et al., 2001, Malnic et al., 2004). Psi, myši a krysy mají mnohem více vyvinutý čich než lidé (Glusman et al., 2001, Malnic et al., 2004). Rozložení pseudogenů na celém psím genomu je na všech chromozomech skrývající OR sekvence. Většina chromozomů má poměrně rovnoměrné rozložení pseudogenů. Výjimkou jsou dva největší psí chromozomy 18 a 21, které mají pouze 4% a 10% pseudogenů. Na úrovni rodiny však bylo nalezeno nerovnoměrné rozložení pseudogenů. Jako příklad lze uvést tři rodiny 16, 26 a 38, které obsahují až 43% pseudogenů, zatímco osm dalších rodin (6, 11, 18, 27, 32, 41, 42 a 51) ukrývají pouze 5% pseudogenů (Quignon et al., 2005)

Zvýšená hladina pseudogeneze u OR by mohla být příčinou rozdílu v čichových schopnostech mezi druhy savců a samozřejmě se musí vzít v úvahu i velikost repertoáru. Pes má více než 1000 OR genů v genomu, lidé mají pouze mezi 600 až 900 geny (Glusman et al., 2001, Malnic et al., 2004), myš mezi 1200 a 1400 geny (Godfrey et al., 2004, Zhang et al., 2007) a krysa má přibližně kolem 1600 genů (Quignon et al., 2005, Zhang et al., 2007). Z toho můžeme odvodit, že pes, myš a potkan mají 2,5-3,5 krát více genů než člověk, to potvrzuje hypotézu, že velikost repertoáru souvisí s čichovými schopnostmi druhů rozlišovat širší rozpětí odorantů (Quignon et al., 2012).

Porovnání klasifikace OR rodin a podrodin mezi psy a lidmi ukázala, že mají podobný počet podrodin, ale téměř polovina podrodin u člověka je zastoupena pseudogeny, to ukazuje, že odraz vysokého počtu pseudogenizačních dějů, ke kterým došlo v hominoidní linii, připomíná celkovou ztrátu čichové funkce u lidí. Kromě rodin a podrodin lze najít ještě



další dvě větve OR proteinů (Freitag et al., 1995, Quignon et al., 2012). Nazývají se třída I a třída II podle objevu OR patřících do těchto tříd. Stejně jako lidé a myši, mají i psi OR rozdělené do dvou tříd. Původně se myslelo, že třída I OR je specializovaná na rozpustné odoranty a třída II OR se zaměřuje na těkavé aromatické látky. Objev těchto dvou tříd OR u obojživelníků posílil tuto teorii (Freitag et al., 1995), ale do dnešního dne tuto teorii žádný experiment nepotvrdil. OR geny patřící do třídy I byly objeveny u mnoha živočišných druhů, jako je člověk, krysa, myš a pes (Quignon et al., 2012). Třídy I a II jsou složeny z 10-41 rodin, každá rodina obsahuje mezi 1-35 geny a v jedné rodině lze nalézt 1 až 11 podrodin. Na rozdíl od genové třídy I, kde jsou všechny OR geny umístěny na psím chromozomu 21 (Quignon et al., 2003) Okolo 200 OR genů patří do třídy I a všechny se nachází ve stejném chromozomu (CFA21) jeden vedle druhého, mezi 29 a 31 Mb. Podobné je to i u člověka, myši a krysy, kde jejich počet genů v třídě I u každého druhu je velmi podobný, například člověk má 100 OR genů v třídě I. Zajímavostí je, že míra pseudogeneze ve třídě I je nižší než ve třídě II (Quignon et al., 2012).

U psa jsou OR geny rozmístěny napříč 49 klastry v genomu. Tyto shluky jsou lokalizovány na 24 z celkového počtu 39 chromozonálních párů, které tvoří psí karyotyp (Quignon et al., 2005). U psů lze identifikovat 51 rodin a 202 podrodin OR a 403 OR sekvencí (Quignon et al., 2003). OR geny patřící do stejné podrodiny mají sklon se nacházet ve stejném klastru, například u psů je to 93 % genů stejné podrodiny v jenom klastru (Malnic et al., 1999). Použitím informací o syntenii se mohou porovnávat klastry mezi druhy, i když jsou rozptýleny do několika chromozomů, v nich lze nalézt ortologní klastry. U psa bylo identifikováno 33 OR klastrů a čtyři izolované geny. Identifikace psích klastrů je založena na RH mapování dat (metoda využívá somatické hybridní klony a rentgenové záření). Na základě údajů syntenie a nukleotidové sekvencí podobnosti mezi lidskými a psími spárovanými klastry bylo objeveno 20 psích klastrů u 29 lidských klastrů. Překvapivě žádný orthologní klastr nebyl nalezen u 13 psích klastrů obsahujících 2-16 genů. Klastry na chromozomech 3,8 a 10 obsahují členy psí specifické rodiny 38 (Quignon et al., 2003). Rodiny s více než 5 geny jsou ve většině případů (17 rodin z 22) rozptýlené přes několik genomických oblastí. Například členové specifické psí rodiny 38, z které je zmapováno 17 genů, jsou rozptýleny přes osm chromozomálních oblastí. Oproti tomu 32 mapovaných sekvencí rodiny 41 se nacházejí na psím chromozomu 20 pouze ve dvou klastrech (Quignon et al., 2003).

Genomové uskupení OR klastrů je dobře uchováno u lidí a myši v mnoha chromozomálních oblastech. Bez ohledu na rozdíly v počtech genů je počet velkých genomových klastrů téměř totožný u člověka a myši. Tato pozorování naznačují, že větší soubor OR genů u myši byl vytvořen především tandemovou genovou duplikací uvnitř každého genomického klastru (Niimura a Nei, 2005). Tento evoluční vzor se zdá být ve shodě s modelem narození a smrti (Sharon et al., 1998), ve kterém jsou nové geny vytvořeny duplikací, následováno divergencí a poté udržováním některých genů a hromaděním škodlivých mutací u jiných genů (Niimura a Nei, 2005, Young et al., 2002).

### 3.2.1.3 Čichové systémy psa

Hlavní čichový systém se skládá z čichové sliznice a čichového kyje. Sliznice obsahuje dýchací epitel a čichový epitel neboli neuroepitel, který obsahuje neurony zahrnující neurony OR (Tatora et al., 2003). U psa se mohou tyto dva epitely překrývat, oba však pokrývají nosní skořepy. Nos psa se rozvětňuje do párové nosní dutiny, každá nosní dutina navazuje na nosní předsíň v přední části a v zadní části je uloženo čichové bludiště. Všechny tyto části jsou pokryty čichovou sliznicí. Velikost sliznice se liší také v závislosti na plemeni. Například německý ovčák má sliznici o velikosti 200 cm<sup>2</sup> a Anglický kokršpaněl jen 67 cm<sup>2</sup>. Pseudo vrstvení epitelu se skládá ze tří typů buněk, včetně čichových neuronů, které představují 60-80 % buněk nalezených v epitelu. Tyto neurony jsou bipolární a jejich dendrity končí na povrchu epitelu. Axony olfaktorických neuronů jsou shlukovány do 10-100 vláken, které tvoří olfaktorická vlákna, z kterých se skládá olfaktorický nerv. Tento nerv přenáší zprávu do čichového kyje, což je jedinečné synaptické relé (jádro hlavového nervu) signálu do mozku. Na periferní části kyje, axony neuronů stejných OR jsou seskupeny do jedné sférické struktury nazvané glomeruly (Mombaerts, 2001, Mombaerts et al., 1996). Glomeruly mají synapse s apikálními dendrity v buňkách olfaktorického kyje. Axony buněk olfaktorického kyje tvoří olfaktorický trakt, který sahá do mozkové kůry (Quignon et al., 2012).

Vedlejší čichový systém se skládá z VNO a vedlejších funkcí čichového kyje, jak již bylo popsáno výše. Psi mají tenký vomeronasální epitel a relativně malý olfaktorický kyj (Denis et al., 2003). Geny V2R jsou u psů a lidí na rozdíl od hlodavců zcela degenerovány, a funkčních V1R genů mají psi méně než 10 (Young et al., 2005). Psí repertoár funkčních V1R genů je mnohem menší, než se čekalo, má pouze devět nepoškozených V1R genů (Quignon et al.,

2006, Young et al., 2005). Alternativní hypotézy naznačovaly, že detekce feromonů pomocí V1R genů zůstala neporušená u hlodavců, zatímco u psů byla ztracena a nahrazena hlavním olfaktorickým systémem, který musel převzít tyto komunikační potřeby. Zatímco nedávná studie zkoumající pseudogeny psa a vlka ukázala, že psí pseudogeny jsou stejné jako vlčí, předpokládá se tedy, že pokles repertoáru V1R genů u psa téměř jistě nenastal jako odpověď na selektivní tlak v průběhu domestikace (Young et al., 2010).

Dále se na čichu mohou podílet orgány exprimující chemické receptory, ačkoliv u psů zatím nebyly identifikovány. Například Maserův orgán, který exprimuje jen část repertoáru OR (Kaluzka et al., 2004, Tian et al., 2004), je velmi citlivý na širokou škálu čichových stimulů (Grosmaître et al., 2007, Marshall et al., 1986). Dále V2R exprimuje Gruenbergovo ganglium a s ním i jiné typy receptorů zainteresovaných do olfakce, třeba receptory spojené se stopovými aminy (TAAR) fungující během prenatálních fází (Fleischer et al., 2007). Psi mají dva potenciálně funkční TAAR geny (Liberles a Buck, 2006). Právě Maserův orgán by se mohl podílet na detekci stimulů během interakcí mezi matkou a kojencem (Quignon et al., 2012).

#### 3.2.1.4 Specifická interakce mezi odorantem a OR

První krok čichového procesu je vazba mezi pachovou molekulou a jejím receptorem. K dnešnímu dni bylo identifikováno jen velmi málo párů vazeb ligandů na receptory. In vitro experimenty u psů byly realizovány na 47 psích OR genech patřících do 6 rodin II. třídy a 22 dalších rodin třídy II a třídy I (Benbernou et al., 2007). Psí OR geny byly přechodně exprimovány do savčí buněčné linie, která exprimuje specifický G protein  $G\alpha$ . Buňky byly poté vystaveny různým pachovým molekulám patřícím do chemické skupiny C6-C13. Do této skupiny patří alifatické aldehydy, ketony, estery, mastné kyseliny a alkoholy. Interakce odorantu s receptorem byla detekována přes měření koncentrace vápníku. Stimulace  $G\alpha$  proteinu vede ke zvýšenému průchodu vápníku skrze otevřené nukleotidové kanály (Nakamura a Gold, 1987). Studie ukázaly, že dva různé aldehydy se nevážou na stejnou sadu OR a že 28 z testovaných OR z 6. rodiny rozpoznávají oktanal, který odráží komplexní kombinační kód ve spojení s neadaptivními receptory. Tyto kódy se zdají být strategií pro vnímání mnoha pachových molekul a nepočitatelné množství pachových směsí (Quignon et al., 2012).

### 3.2.1.5 Polymorfismus čichových receptorů u psa

Různé čichové schopnosti a citlivost u jedinců může částečně vysvětlit polymorfismus OR genů. Byly identifikovány dva typy modifikace. První typ nastává uvnitř OR genů a zahrnuje jeden nukleotidový polymorfismus (SNP) a/nebo v indelech, druhý typ nastává ve variaci v počtech kopií (CNV), ten obsahuje strukturální změny i ve větším měřítku a mohou zahrnovat celé geny. První studie OR polymorfismu byla provedena u lidí (Gilad et al., 2000, Sharon et al., 2000). Tyto studie nám ukázaly, že kódující oblasti OR genů jsou vysoce polymorfní. První studie OR polymorfismu OR genů u psa byla provedena na 16 OR genech, zkoumalo se 95 psů z 20 různých plemen (Tacher et al., 2005). Z této studie vzešlo 98 SNP a 4 indely. I přes to, že všechny studie ukázaly, že jsou všechny OR geny polymorfní, úroveň polymorfismu kolísala mezi geny od 2 do 11 SNP na jednom OR genu. Kromě toho vedlejší alelová frekvence SNP též kolísala, a to od 0,5 až do 50%. Je zajímavé, že více jak 50% SNP vede ke změně aminokyseliny a tyto SNP jsou umístěny podél celého genu. Z 16 zkoumaných genů jich 5 mělo SNP nebo indel s předčasně zavedeným stop kodonem, a tím vytvořil pseudoalelu (Quignon et al., 2012).

Přítomnost chybějícího SNP u rozdílných OR domén zapojených do vazby s ligandy (extracelulární nebo transmembránové domény) nebo do interakce s G proteiny (intracelulární domény) mohou přispět k funkční OR diversifikaci za pomoci ovlivnění přichycování odorantů k ligandu nebo vnitrobuněčných interakcí s proteiny zapojenými do přenosu signálů. Tyto varianty OR proteinů mohou hrát roli ve vnímání odorantové citlivosti a rozlišování specifického odorantu. Toto spojení mezi variantami OR a vnímáním odorantů bylo prokázáno dvěma studiemi lidských OR genů a jejich ligandy (Keller et al., 2007, Menashe et al., 2007).

Často byly také zjištěny nesmyslné SNP a indely, které vedou k přerušení ORF OR genů (Robin et al., 2009). U lidí byly objeveny velké rozdíly v počtu potenciálně aktivních OR genů mezi populacemi (Gilad a Lancet, 2003, Menashe et al., 2003). U psů je to podobné jako u lidí, byly nalezeny různé podmnožiny pseudogenů mezi plemeny. V celkovém OR repertoáru bylo zjištěno, že přibližně 20% tvoří pseudogeny. Tyto pseudogeny nejsou retrogeny a vedly od nesmyslných mutací nebo krátkých indelů vyskytujících se během evoluce (Robin et al., 2009, Tacher et al., 2005). Na úrovni celé populace, ze 109

analyzovaných psích OR genů, 16 alel vedlo k tvorbě pseudogenů. OR geny jsou vysoce polymorfní, s průměrem jednoho SNP na 577 nukleotidů. Tento stupeň polymorfismu je vysoce variabilní pro některé OR geny, které mají málo, pokud tedy mají nějaké SNP. Ty ostatní jsou vysoce polymorfní. Vysoká úroveň genetického polymorfismu vede k velkému počtu substitucí aminokyselin ve všech částech OR. To naznačuje, že velký podíl mutací probíhajících v průběhu replikace DNA není kontrolovaně selektivní, to usnadňuje vývoj OR repertoáru a zvyšuje potenciál rozeznávání slabých pachů (Robin et al., 2009). To naznačuje, že se stále vyskytuje pseudogenizace OR, stejně jako u lidí (Gilad a Lancet, 2003). Analýza celého genotypu naznačuje, že distribuce pseudogenů v rámci plemene není homogenní, a to především u psů, kteří nemají žádnou, jednu nebo dvě alely s přerušným ORF. Z toho se dá odvodit, že status genu jako aktivního nebo neaktivního (pseudogen) se nemusí vztahovat na celou psí populaci, místo závislosti, na plemeni nebo jednotlivci. Z toho můžeme usoudit, že tvorba pseudogenů je stále aktivním procesem (Gilad et al., 2003, Gaillard et al., 2004, Robin et al., 2009). S tím souvisí i výskyt poměrně velkého množství mutací, které pravděpodobně vedou k pokračující diverzifikaci OR repertoáru. Rizika spojená se škodlivými mutacemi jsou vyvážena vysokou kombinační povahou OR repertoáru (Benbernou et al., 2007, Malnic et al., 1999).

Analýza počtu kopií variací (CNV) u lidí ukázala, že OR geny jsou obohaceny v oblastech, které obsahují CNV (Nozawa et al., 2007, Young et al., 2008). První mapa CNV u psů ukázala prevalenci CNV a že některé z postižených genových tříd jsou podobné lidským a hlodavčím (Chen et al., 2009). Další studie prokázala, že 429 genů, které jsou obsaženy v oblastech CNV, se podílejí na široké škále biologických procesů, včetně čichu (Nicholas et al., 2009). Zatím nelze určit, zda CNV samy o sobě zvyšují počet potenciálně aktivních OR genů a zda tato varianta může regulovat funkci OR genů patřících do oblastí CNV (Zhang et al., 2004a, Robin et al., 2009).

#### 3.2.1.6 Genové exprese OR

Zatím kvůli etickým problémům bylo provedeno jen velmi málo studií genové exprese psích OR. Každopádně podobné údaje získané u myší, potkanů a lidí se mohou použít k odvození informací o psech (Quignon et al., 2012). Studie čichového epitelu u myší ze začátku ukázaly, že hladina exprese se výrazně liší mezi OR geny (Young et al., 2003). Exprese

větší než 70 % OR genů může být detekována pomocí mikro array hybridizace (Zhang et al., 2004b). Studie exprese u psích OR genů se soustřeďuje na varlata (Parmentier et al., 1992). Ty ukázaly, že většina OR genů exprimovaných ve varlatach měla malou nebo žádnou expresi v čichové sliznici. Tento expresi omezující vzor napovídá, že tyto OR mohou hrát roli při kontrole dozrávání spermií, jejich migraci nebo fertilizaci. Tyto hypotézy byly potvrzeny studiem jednoho lidského OR genu, který se podílí na chemotaxi spermií (Spehr et al., 2003). Spermatozoa exprimována těmito OR geny migrují a hromadí se v maximální koncentraci odorantu jménem bourgeonal (Fukuda et al., 2004). Závěrem hypotézy je, že OR jsou exprimovány v čichovém epitelu a úroveň jejich exprese se značně liší. Biologické důsledky čichové kapacity jsou stále záhadou a je nutné je zkoumat do větší hloubky i ve vztahu k různým plemenným čichovým výkonům (Quignon et al., 2012).

### 3.2.1.7 Vazebná nerovnováha (LD)

Vazebná nerovnováha ukazuje na spojení mezi dvěma polymorfními markery, u kterých se dvojice alel dědí společně. Předchozí studie ukázaly, že psi disponují vyšší úrovní LD než člověk. LD se také ukázala být heterogenní se střídavými genomickými dlouhými a krátkými oblastmi LD (Lindblad-Toh et al., 2005). Takovýto vzor střídání dlouhé a krátké LD oblasti, které se liší mezi plemeny, byl přičítán populaci psí historie, která byla charakterizována dvěma úzkými a rozpínavými obdobími (Lindblad-Toh et al., 2005, Sutter et al., 2004). LD s nízkou hodnotou znamená, že SNP alely v rámci individuálních OR genů nejsou zděděné jako blok, a navrhuje probíhající proces genové konverze, neboli přeměně jedné alely na druhou, a potenciálně generuje mnoho OR genů s vyšší hladinou polymorfismu než masa DNA (Newman et al., 2003, Sharon et al., 1999).

### 3.2.2 Olfaktorický subgenom hlodavců

U potkanů jako u prvních byly identifikovány geny OR použitím degenerovaných primerů korespondujících s konzervovanými aminokyselinami s receptory spojenými s G-protein receptory (GPCR) (Buck et al., 1991). U myši je identifikováno 1210 neporušených OR genů, 300 pseudogenů a 1510 OR sekvencí (Young et al., 2002). Zatímco jiná studie říká, že u hlodavců najdeme více než 1400 - 1550 OR genů v genomu, což je přibližně o 50% více, než bylo nalezeno v lidském genomu (Glusman et al., 2001, Godfrey et al., 2004). Funkční repertoár myších OR je více než třikrát větší než u člověka (Young et al., 2002). OR geny byly

identifikovány na více než 40 chromozomálních oblastech vyskytujících se na všech chromozomech, kromě chromozomu 12 a Y. Podíl pseudogenů se odhaduje na 20% (Zhang et al., 2002, Young et al., 2002). Dle jedné studie bylo nalezeno 21 OR genů na 11 různých genomických oblastech (Sullivan et al., 1996) a další studie našly dodatečné lokusy (Strotmann et al., 1999, Carer et al., 1998, Fan et al., 1995). Analýza malých vzorků OR genů naznačuje, že většina myších genů je funkční, zatímco podstatné frakce OR genů v mikrosmatických druzích jsou pseudogeny. Příklady těchto mikrosmatických druhů jsou například hominidé, některé druhy opic a delfíni (Rouquier et al., 2000, Freitag et al., 1998). OR geny jsou uspořádány v myším genomu ve skupinách, které obsahují průměrně 16 genů s průměrnou hodnotou délky mezi geny 21kb (Young et al., 2002).

Dvě rodiny GPCR u myší jsou určeny především k detekci feromonů a těmi jsou vomeronasální receptory V1R a V2R. Hlodavci mají desítky nedotčených V2R genů a více než 100 funkčních V1R genů (Yang et al., 2005, Young et al., 2005). Přesto však podle Liberles a Buck (2006) hlavním zdrojem sociální komunikace u hlodavců jsou některé receptory spojené se stopovými aminy (TAAR), reagující na těkavé aminy, které jsou přítomny v jejich moči. Předpokládalo se, že TAAR by mohly být zapojeny do schopnosti myší rozpoznávat pohlaví a sexuální nebo stresový stav ostatních myší. U myší se vyskytuje 15 potenciálně funkčních genů TAAR, u potkanů dokonce 17 (Liberles a Buck, 2006).

Polymorfismus u myší byl studován porovnáním dvou kmenů OR a bylo prokázána vysoká míra polymorfismu OR genů s průměrnou hodnotou 2,68 SNP na Kb (Zhang et al., 2004a). Hlodavčí OR repertoár obsahuje přibližně 20 % pseudogenů stejně jako u psů (Robin et al., 2009). Z celkového počtu 340 pseudogenů v kompletní datové sadě, které nejsou přerušeny mezerami v sekvenčních datech, 134 (39 %) jsou přerušeny rozptýlenou opakující se sekvencí, 27 z nich jsou jednou přerušeny jakýmkoli rozpoznatelným opakováním a nejsou seřazeny s OR po celé jejich délce. Zbývajících 179 jsou po celé délce, ale obsahují jednu nebo více stop kodonů a/nebo chyby v posunu čtecího rámce (Young et al., 2002). Porovnání transkriptomu čichového epitelu u krys u různé věkové kategorie (dospělý, novorozenec a starý) ukázalo, že většina exprimovaných OR genů byla společná, ale jejich jednotlivé úrovně exprese byly rozdílné (Rimbault et al., 2009). Je pak snadné předpokládat, že pro novorozené hluché a slepé krys, některé OR mohou hrát významnou roli při komunikaci mezi matkou a novorozencem (Parmentier et al., 1992).

Myší klastry obsahují 92% mapovaných OR genů, mají orthologní OR oblasti v lidském genomu, což ukazuje, že uspořádání těchto genových klastrů bylo vytvořeno ještě před rozdělením linií hlodavců a primátů. Ačkoliv mají myši vyšší počet OR genů, tyto geny se nacházejí na výrazně méně místech než lidské OR. U myší je to na 46 místech, u lidí na 104 (Glusman et al., 2001).

### **3.2.3 Olfaktorický subgenom člověka**

OR geny představují největší savčí genové rodiny s několika stovkami genů v lidském genomu (Glusman et al., 2001). Lidé jsou schopni rozlišit tisíce odlišných pachů. Specificita určení pachu je zdůrazněna pozorováním jemných změn v molekulární struktuře odorantu, který může vést k zásadním změnám ve vnímání pachů (Buck et al., 1991).

Výzkumem sekvence genomu bylo identifikováno více než 900 lidských OR genů na více než 100 chromozomálních místech na všech možných lidských chromozomech kromě chromozomu 20 a chromozomu Y (Rouquier et al., 1998, Glusman et al., 2001). Přibližně 350 z těchto genů jsou neporušené a zdají se být funkčními (Zozulya et al., 2001). Největší lidské OR geny jsou seskupeny do genomových oblastí, které mohou obsahovat více než 100 genů (Glusman et al., 2001). Lidské OR geny byly nalezeny na více než 40 místech v lidském genomu pomocí fluorescenční in situ hybridizace (FISH) (Rouquier et al., 1998, Trask et al., 1998) a na více než 100 oblastech pomocí sekvenční analýzy (Glusman et al., 2001). Lidské oblasti obsahující OR geny vykazují zaujatost pro chromozonální skupiny blízko telomer a centromer (Rouquier et al., 1998, Trask et al., 1998). V rodině lidských OR genů, která má mít rychlý vývoj, okolo poloviny lidských OR obsahuje genomové klony, které hybridizují k více než jedné genomové oblasti. Ty naznačují, že velké bloky DNA obsahující tyto geny se v poslední době duplikují (Trask et al., 1998). Některé z těchto duplikací jsou tak nedávné, že počet jejich kopií je v lidské populaci polymorfní (Trask et al., 1998).

Lidský čichový epitel může mít až 20krát méně OR než pes. To přispívá ke schopnosti psů detekovat pachové molekuly při mnohem nižší koncentraci na rozdíl od lidí. Dalším prvkem, který se může podílet na méně vyvinutém lidském čichovém vnímání je celková velikost čichového epitelu, hustota neuronových buněk a počet OR, či velikost čichového kyje (Rouquier et al., 2000, Issel-Tarver et al., 1997). Další proměnná, která by mohla vysvětlit rozdíl ve vnímání čichových schopností mezi člověkem a psem, je vazebná afinita



pachových molekul k jejich příslušným OR, toto by mohlo ovlivňovat i rozdíly mezi psími plemeny, a to v případě, že různé alely exprimují stejné OR (Quignon et al., 2003, Glusman et al., 2000). Psí čichový OR repertoár je přibližně o 30% větší než u lidí a má mnohem nižší procento pseudogenů. To by mohlo zvýšit počet funkčních OR genů u psů než u lidí o přibližně dvojnásobek, a tím tak přispět k širší škále pachových molekul, které mohou psi detekovat (Quignon et al., 2003).

Jednotliví lidé se liší ve svých schopnostech rozpoznat některé pachy. Některé specifické anosmie byly prokázány, že jsou geneticky podmíněné (Wysocki et al., 1984, Whissell-Buechy et al., 1973). V žádném případě nebyl definován deficit ve smyslovém vnímání nebo variace v molekulárním základu. Vztah mezi odorantem a receptorem není zatím znám pro jakýkoliv lidský gen. Funkční studie lidských OR genů se potýká s obtížemi při snaze získat živé neurony od lidských dárců (Sosinsky et al., 2000). Tento problém se řeší pomocí modelového organismu, jako jsou myši. Identifikace orthologních vztahů mezi lidskými a myšími OR geny je klíčem k převedení dat ze studií myši do pochopení lidského čichu. (Young et al., 2002).

Podle studie Glusmann et al. (2001) se podíl pseudogenů u lidí odhaduje na nejméně 53 %, později byl tento podíl přepočítán na 63 % (Glusman et al., 2001, Quignon et al., 2003). 60 – 67 % lidských OR pseudogenů se nachází v lidském čichovém epitelu (Zhang et al., 2007, Glusman et al., 2001). Lze identifikovat 61 rodin OR genů, které jsou rozděleny do dvou tříd stejně jako u psů (Glusman et al., 2001, Quignon et al., 2003), 10 rodin patří do třídy I a 51 rodin do třídy II. Rodiny obsahují mezi 1 až 93 OR sekvencemi a jsou rozděleny celkem do 285 podrodin. Je zajímavé, že 111 podrodin má pouze pseudogeny (Quignon et al., 2003). Malé shluky a izolované geny (v celkové výši přibližně 285 sekvencí) mají vysokou úroveň pseudogenů (78%), a největší uskupení na lidském chromozomu 11 obsahuje 56% pseudogenů (pro srovnání průměrná hodnota pseudogenů pro celý repertoár je 63%). Rozdělení pseudogenů do rodin je poměrně rovnoměrné, výjimkou rodiny 41, který obsahuje 87% (Glusman et al., 2001, Quignon et al., 2003). V lidském genomu se nachází 80 klastrů a 62 izolovaných genů. Lidské klastry byly určeny po sekvenování genomu, kde všechny geny nebo skupiny genů oddělených více než 1Mb byly považovány za nezávislé klastry (Glusman et al., 2001).

Funkce V2R je u lidí velice sporná (Quignon et al., 2012). Člověk má V2R geny zcela degenerované, stejně jako šimpanzi nebo makakové (Young et al., 2005). Dokonce i s geny V1R na tom nejsou lidé nejlépe. Těch mají lidé funkčních méně než deset, což je desetina repertoáru hlodavců (Young et al., 2005). U dospělých lidí bylo ve VNO popsáno 5 potenciálně funkčních V1R genů s přítomností velkého množství pseudogenů (identifikováno přibližně 100 pseudogenů v jednom V1R genu) (Rodriguez, 2005). Sekvence těchto 5 lidských V1R genů není podobná žádnému z V1R genů nalezených u myši (Rodriguez et al., 2002).

### **3.3 Meziplenné rozdíly psích subgenomů**

Evoluce může za velký repertoár OR genů, které tvoří největší genové rodiny savčích genomů. Tato znalost rozdílnosti čichových receptorů je zásadním krokem v procesu pochopení čichových schopností mezi jednotlivci téhož druhu. Ideálním modelovým systémem pro takové zkoumání jsou psí plemena (Robin et al., 2009).

Studium čichu psa bylo zaměřeno především na repertoár OR genů, nejprve na jejich identifikaci a poté na analýzu jejich rozmanitosti u různých plemen psů (Quignon et al., 2012). Jedním z prvků, díky kterým lze vysvětlit vysoce vyvinuté čichové schopnosti psů a meziplenné rozdíly, je velikost epitelu a počet neuronů přítomných na něm. Je možné se tedy domnívat, že čím větší je čichový epitel, tím vyšší je počet neuronů, které přispívají k lepšímu vnímání odorantů (Robin et al., 2009; Tacher et al., 2005)

Dalším prvkem je repertoár OR genů. Podíl funkčních genů a pseudogenů lze vysvětlit částečnými rozdíly v čichových schopnostech pozorovaných u savců. Například lidé, kteří trpí mikrosmatii (méně vyvinutým čichem), mají minimálně dvakrát méně potenciálně aktivních OR genů ve srovnání se psy. Kromě velikosti je také důležitá rozmanitost čichového repertoáru. Tato rozmanitost by mohla přispět ke zjištění rozsahu detekovaných molekul. Například potkan má v repertoáru 1 493 OR genů ve srovnání se psem, kteří mají v repertoáru 1094 genů. Přes tento rozdíl počet OR genů v rodině je velmi podobný u obou druhů. Velký repertoár nemusí souviset s velkou diverzitou OR (Robin et al., 2009, Tacher et al., 2005).

Třetím bodem je úroveň rozmanitosti OR genů. Poslední studie ukázaly, že psí OR geny jsou také polymorfny a některé z variant jsou plemenně specifické (Robin et al., 2009, Tacher et al., 2005). Z toho lze vyvodit, že tyto varianty plemenné specifčnosti mohou být zapojeny v rozdílném čichu u psích plemen. Do dnešních dnů však nelze u psů zjistit žádnou korelaci mezi genetickou rozmanitostí OR a změně ve vnímání, protože ligandy u většiny psích OR nejsou stále známy (Quignon et al., 2012). Analýza kombinací u rozdílných jednonukleotidových polymorfismů (SNP) v chovu ukazuje, že díky SNP mohou být rozlišena plemena. Je to také obecný případ SNP, ale můžeme i předpokládat, že tato plemenná specifikace OR alel může souviset s funkčními rozdíly mezi plemeny. Navíc úroveň exprese a účinnost přenosu signálu do mozku by mohla přispět k lepšímu čichu. A nakonec i mozkové procesy mohou hrát významnější roli. Zpracování čichové zprávy je krok, kdy dojde k rozpoznání a zapamatování čichové molekuly. Tento proces je komplexní, jako když je jeden odorant nejčastěji tvořen více nezávislými molekulami, a vnímání pachů nemusí být nutně souhrnem individuálních odorantů. Kromě toho psí chování je hlavní složkou, i když není nutně součástí čichového procesu jako takového (Quignon et al., 2012). Rozdíl v čichových schopnostech plemen nebo jednotlivců je tedy buď v detekci odorantů s rozdílnými alelovými geny enkódující OR s vyšší afinitou s příslušnými ligandy, nebo účinnější zahájení signálu přenosové kaskády (Tacher et al., 2005). Studie Tacher a dalších (2005) ukázala, že rychlost polymorfismu je vyšší, jestliže mají všechny geny alespoň jeden SNP v jejich ORF.

Schopnost psů detekovat pachové molekuly pochází z interakce mezi několika mozkovými funkcemi. Jak již bylo výše popsáno, prvním krokem v tomto procesu je efektivní vazba pachové molekuly k dané množině OR. Chybějící OR nebo přítomnost alely vedoucí k OR s nízkou vazebnou účinností by mohl vést k následnému špatnému zpracování, nebo k úplné absenci čichového procesu. Jako příklad uvádí Gaillard et al. (2004) spojení mezi nukleotidovým polymorfismem u dvou OR genů člověka (OR7D4 a OR11H7P) a vnímáním konkrétních pachů – androsteronu a isovalerové kyseliny (Keller et al., 2007, Menashe et al., 2007, Gaillard et al., 2004). Tato genetická rozmanitost OR genů s 47 % SNP vedoucí k nesmyslné mutaci by měla ovlivnit pachové schopnosti u psů (Robin et al., 2009).

Dalším prvkem ovlivňujícím čichové schopnosti mezi plemeny může být akumulace mutací rozmanitých OR aminokyselinových sekvencí. Ta může mít dva opačné účinky, které

musí být v rovnováze. Těmito efekty jsou zvýšené rozpoznávání odorantových molekul a riziko ztráty čichové funkce. Tato ztráta čichové funkce je pozorovatelná v právě probíhající pseudogenizaci. Každopádně riziko ztráty čichové schopnosti je minimalizován vysokým kombinačním kódem (Benbernou et al., 2007, Malnic et al., 1999, Robin et al., 2009). Avšak ne všechny OR geny jsou polymorfní a až 22 % z OR genů u jednotlivého plemene nejsou vůbec polymorfní. Tyto nepolymorfní geny by mohly být zapojeny do rozpoznávání odorantů zvláštního významu nebo do unikátní vazebné specifické vazby, kterou nesdílí s ostatními OR (Robin et al., 2009).

### 3.3.1 Výzkumy zaměřené na meziplemenné rozdíly v čichu

V jedné z prvních větších studií, proběhlo sekvenování pěti nekódujících oblastí psiho genomu v kohortě 95 psů pěti plemen. Bylo objeveno 201 SNP a 19 indelů. Výsledky této studie ukázaly na nižší úroveň genetické diverzity, než bylo pozorováno u OR genů. To potvrzuje vysokou úroveň genetické rozmanitosti OR kódujících exonů. Izolované OR geny a geny patřící do malých klastrů byly nadměrně zastoupeny mezi 109 OR geny ze studie Robin et al. (2009). Tyto OR geny mají tendenci mít nižší úroveň polymorfismu než OR geny z velkých shluků, jejich přítomnost tím zvyšuje hodnotu N a skutečný rozdíl mezi OR geny (Sutter et al., 2004, Robin et al., 2009). Vzdálenost mezi SNP se označuje N. N je střední vzdálenost vyjádřená v nukleotidech mezi dvěma SNP. Pro N platí, že čím nižší hodnota N, tím vyšší úroveň polymorfismu (Robin et al., 2009).

Druhou rozsáhlejší studii provedli Robin et al. v roce 2009. Provedli analýzu DNA sekvence většího počtu OR genů (109) v kohortě 48 psů ze šesti známých plemen, které se lišily ve schopnosti detekovat odoranty. Jako modelová plemena si vybrali čtyři chovy známé pro jejich velmi vyvinuté čichové schopnosti: německý ovčák, belgický ovčák typ Malinois, anglický špringršpaněl a labradorský retrívr. A dvě plemena známá pro své slabé čichové schopnosti: Greyhound a pekingský palácový psík. OR geny byly selektovány, aby reprezentovaly velký počet podrodin, a byly umístěny v různých klastrech. Byla tak objevena vysoká úroveň polymorfismu OR genů s 732 identifikovanými mutacemi napříč všemi čtyřmi fokálními geny. Byly pozorovány rozdíly v úrovni polymorfismu OR genů v rámci mezi plemeny. Při oddělené analýze těchto šesti plemen celkový počet alel se v rámci plemen významně lišil. V rámci celé populace mají OR geny širokou škálu úrovně polymorfismu.

Kromě toho tento polymorfismus závisí na zkoumaném plemeni. To znamená, že některé OR geny jsou slabě polymorfní nebo monomorfní u jednoho plemene a silně polymorfní u ostatních pěti. Globálně OR geny byly více polymorfní než jakékoliv jiné sekvenční exony a nekódující oblasti DNA (Robin et al., 2009). Úroveň polymorfismu OR genů má tendenci být ve vztahu k umístění v klastru. Nejméně polymorfní geny jsou v největším případě umístěny v malém OR klastru a více polymorfní geny ve velkých klastrech (Sharon et al., 2000, Zhang et al., 2004a). Substituované aminokyseliny byly rozděleny podél celého proteinu: v transmembránové a vnitřní a vnější doméně receptoru. V tomto pokusu bylo vyzorováno mimo jiné, že pro každé studované plemeno bylo možné identifikovat konkrétní haplotyp pro počet OR genů charakteristických pro každé plemeno. Kombinace malého počtu haplotypů lze použít jako genetický podpis, který by mohl pomoci k určení, zda daný pes patří nebo nepatří do určitého plemene. Jako příklad lze uvést haplotyp nalezený u 11 z 16 pekingských palácových psů a to GCAGAGGTAAT, tento haplotyp se však u jiných plemen nevyskytoval vůbec (Robin et al., 2009).

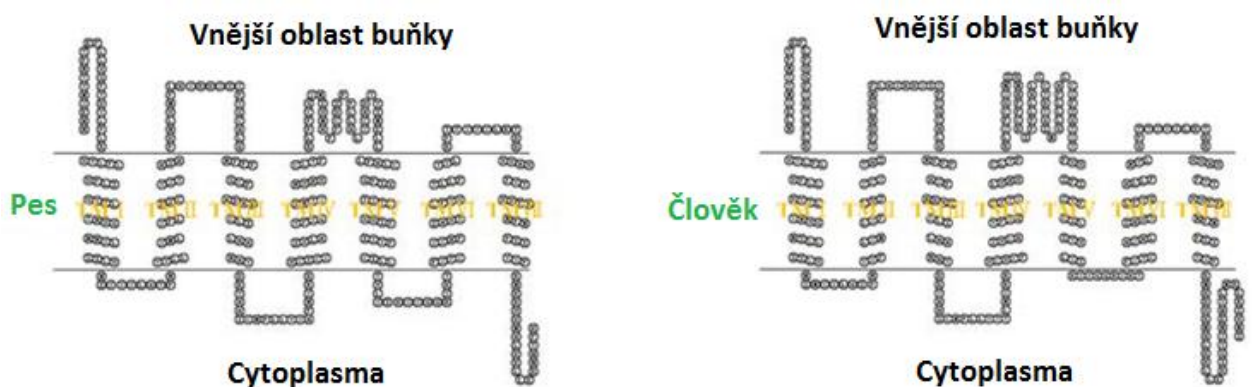
Počet haplotypů specifických pro určité plemeno	Německý ovčák (GSD)	Belgický ovčák Malinois (BM)	Anglický špringršpaněl (ESS)	Greyhound (Grey)	Labradorský retrívr (LR)	Pekingský palácový psík (Pek)
1	11	41	43	24	25	61
2	8	14	13	10	9	12
3	6	2	2	1	4	8
4	3	2	7	2	4	10
5	1	0	0	0	0	2
6	0	0	0	0	0	2
9	1	0	0	2	0	1
11	0	0	0	0	0	1
<b>Celkový počet specifických haplotypů plemene</b>	<b>30</b>	<b>59</b>	<b>65</b>	<b>39</b>	<b>42</b>	<b>97</b>

Tabulka 2: Počet haplotypů specifických pro určité plemeno a počet kolikrát jsou zastoupeny (Robin et al., 2009).

Dalším plemenem, u kterého byl studován psí genom, byl Korejský Jindo. Toto plemeno pochází z ostrova Jindo z Jižní Koreje a bylo uznáno UKC 1. ledna 1998 a FCI v roce 2005. Je to druh loveckého plemene a vyznačuje se urputnou lojalitou k lidem a statečnou povahou. Tento pes má velmi ostrý sluch a čich, je středně velký, má vztyčené uši a srpovitě zahnutý ocas. Studie zkoumající toto plemeno bylo porovnáno s referenčními hodnotami pocházejícími od plemene Boxer a při srovnávání mapovaných oblastí genomu byla nalezena shoda v 94,02 % genomu (Kim et al., 2012). Při skenování genomu tohoto plemene byly

odhaleny geny, které jsou spojovány s nemocemi u lidí, psů a jiných druhů. Přibližně 58 genů bylo spojeno s fenotypy nemocí, které jsou sdíleny s lidmi a jinými druhy. 18 z 58 genů bylo spojeno s mutacemi fenotypu společnými pro lidi a psy (Splendore et al., 2005). Asi nejdůležitějším zjištěním studie tohoto plemene bylo objevení nových psích genomových sekvencí, které odpovídají mezerám v genomu boxera (Wheeler et al., 2008, Kim et al., 2012). Čichový repertoár OR boxera obsahuje 1179 genů (Aloni et al., 2006). Zatímco analýza homozygotních SNP OR genů plemene Jindo a nepřítomnost odpovídajících genů v genomu boxera znamená, že schopnost ve vnímání odorantů se mezi těmito plemeny a plemeny obecně může výrazně lišit (Roberts et al., 2010).

Plemeno Korejský Jindo je i unikátní dvěma jedinečnými OR geny pojmenovanými cOR5AS1 a cOR14C36. Tyto dva geny nebyly zatím u žádného jiného plemene objeveny. Svou stavbou se řadí do skupiny receptorů spojených s G proteiny. Nukleotidová sekvence genu cOR5AS1 mezi různými savci vykazuje vysokou homologii s ortologní proteinovou sekvencí u člověka, šimpanze, makaka, prasete, myši a krysy. Předpokládá se, že protein kódující tento unikátní gen může být zapojen do čichových procesů lidí a psů a jeho funkce může být evolučně zachována i v jiném savčím druhu. Jak přesně však dosud není známo (Kim et al., 2012, Mainland et al., 2005).



Obrázek 3: Protein kódující unikátní OR gen cOR5AS1 u psa a jeho lidský homolog (Kim et al., 2012).

Zatímco druhý gen cOR14C36 je u psa pseudogen nesoucí stop kodon, jeho lidský homolog je naopak plně funkčním genem. Zatím se však neví, zda tento pseudogen

představuje evoluční zbytek nebo nevhodný odpad v psím genomu, nebo proč jsou tyto zdánlivě zbytečné geny evolučně zachovány v genomu člověka (54 %), psa (20 %), myši (20 %) a krysy (19,5 %) (Poliseno et al., 2010, Kim et al., 2012). U psa jinda byl též nalezen specifický genotyp na 9. sekvenční pozici a to naznačuje, že tento genotyp by mohl být použit jako genetický marker pro identifikaci plemene Jindo (Kim et al., 1998, Kim et al., 2012). Plemeno Jindo je zcela unikátní a při porovnávání DNA sekvencí bylo zjištěno, že je nezávisle čistokrevné (Kim et al., 1998, Ostrander et al., 2005, Savolainen et al., 2002).

Srovnávací analýzy myších, lidských a psích genových rodin OR jsou užitečné právě pro zjišťování dalších funkčních a evolučních aspektů čichu savců (Young et al., 2002). A nejen to, hluboký výzkum psího genomu by mohl mít významný dopad na lidskou biologii a lékařství. Více než 360 genetických chorob nalezených u lidí můžeme najít i u psů (Patterson, 2000, Sargan, 2004). Pes je tedy vhodným zvířecím modelem pro identifikaci lidských genů způsobujících onemocnění a dále i pro studium mechanismů spouštějících lidské nemoci (Kim et al., 2012).

## 4 Závěr

Tato bakalářská práce shrnuje poznatky z odborné literatury o výzkumech na téma olfaktorický genomový repertoár psa. Poznatky jsou následně mezi sebou porovnány a je provedena analýza tvrzených zjištění. Práce ve své druhé části také poukazuje na rozdíly, které lze v tomto tématu nalézt mezi psy, hlodavci a člověkem a zároveň mezi jednotlivými plemeny psů navzájem.

V první části jsem se zaměřila na vymezení a vysvětlení základních pojmů dané problematiky. V další části práce poukazuji na mezidruhové rozdíly v čichu. Srovnávám zde rozdílné čichové soustavy psů, hlodavců (hlavně myši) a člověka, s důrazem na čichové systémy psa. Výsledkem srovnání bylo, že pes má se svými 1094 identifikovanými OR geny přibližně o 18 % více genů než člověk (900) a o necelých 27 % méně OR genů než hlodavci (1500). Též se velmi liší v rozdělení genů na chromozomálních oblastech. Pes má OR geny rozmístěny na 24 - 37 chromozomálních oblastech, hlodavci na 40, zatímco lidé dokonce na více než 100 oblastech. Co se týká podílu pseudogenů jsou na tom psi a myši velmi podobně, lidé však se svým podílem 53-63 % pseudogenů velmi vyčnívají. Tento podíl je jedním z důkazů, proč mají lidé horší čich. Dalším zajímavým objevem bylo, že psi a lidé mají velmi málo funkčních V1R genů. Psi mají pouze 9 funkčních V1R genů a lidé dokonce jen 5, kromě toho mají zcela degenerované V2R geny. Avšak u psů je funkce těchto v2R genů nahrazena hlavním čichovým systémem.

Nakonec se zaměřuji na rozdíly čichových systémů u rozličných plemen psů. Zaměřila jsem se na plemena s velmi rozdílnými čichovými schopnostmi nebo na plemena se zvláštnostmi v jejich čichových schopnostech.

Do dnešní doby byl velmi dobře popsán čichový systém psů po fyziologické a anatomické stránce, avšak výzkumy v oblasti olfaktorického subgenomu psa stále probíhají a neustále se tedy objevují další nové studie, které se tímto tématem zabývají. Ve své práci jsem sumarizovala podstatné a důležité poznatky, které byly dosud v odborné literatuře zveřejněny a vytvořila tak podklad pro další zkoumání dané problematiky.



## 5 Citovaná literatura

- Aloni, R., Olender, T., Lancet, D.** 2006. Ancient genomic architecture for mammalian olfactory receptor clusters. *Genome Biology*, 7, R88.
- Araneda, R.C., Kini, A.D., Firestein, S.** 2000. The molecular receptive range of an odorant receptor. *Natur Neuroscience*. 3, 1248-1255.
- Asai, H., Kasai, H., Matsuda, Y., Yamazaki, N., Nagawa, F., Sakano, H., Tsuboi, A.** 1996. Genomic structure and transcription of a murine odorant receptor gene: differential initiation of transcription in the olfactory and testicular cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 221, 240-247.
- Bautze, V., Bär, R., Fissler, B., Trapp, M., Schmidt, D., Beifuss, U., Bufe, B., Zufall, F., Breer, H., Strotmann, J.** 2012. Mammalian-specific OR37 receptors are differentially activated by distinct odours fatty aldehydes. *Chemical Senses*. 37, 479-493.
- Benbernou, N., Tacher, S., Robin, S., Rakotomanga, M., Senger, F., Galibert, F.** 2007. Functional analysis of a subset canine olfactory receptor genes. *Journal of heredity*. 5(98), 500-505.
- Bozza, T., Feinstein, P., Zheng, C., Mombaerts, P.** 2002. Odorant receptor expression defines functional units in the mouse olfactory system. *The Journal of Neuroscience*. 22, 3033-3043.
- Breer, H. a Strotmann, J.** 2005. The Septal organ: a "mininose" with dual function? *ChemoSense*. 7, 2-7.
- Breer, H., Fleischer, J., Strotmann, J.** 2006. The Sence of smell: multiple olfactory subsystems. *Celullar and molecular life sciences*. 63, 1465 - 1475.
- Broman, I.** 1921. Über die Entwicklung der konstanten gröseren Nasennebenhöhlendrüsen der Nagetiere. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* 60, 439-586.
- Buck, L.B.** 1996. Information coding in the vertebrate olfactory system. *Annual Review of Neuroscience*. 19, 517-544.
- Buck, L.B.** 2004. Olfactory receptors and odor Coding in Mammals [Článek] // *Nutrition Reviews*. 11 (62), 184 - 188.
- Buck, L., Axel, R.** 1991. A Novel Multigene Family May Encode Odorant Receptors: A Molecular Basis for Odor Recognition. 65, 175 - 187.

- Carer, E.A., Issel-Tarver, L., Rine, J., Olsen, A.S., Stubbs, L.** 1998. Location of mouse and human genes corresponding to conserved canine olfactory receptor gene subfamilies. *Mammalian Genomics*. 9, 349-354.
- Clutton-Brock, J.** 1995. *Origin of the dog: domestication and early history*. Cambridge University Press. 7-20.
- Cornu, J.N., Cancel-Tassin, G., Ondet, V., Girardet, C., Cussenot, O.** 2010. Olfactory detection of prostate cancer by dogs sniffing urine: A step forward in early diagnosis. *European Urology*. 59, 197-201.
- Cutforth, T., Moring, L., Mendelsohn, M., Nemes, A., Shah, N.M., Kim, M.M., Frisén, J., Axel, R.** 2003. Axonal ephrin-as and odorant receptors. Coordinate determination of the olfactory sensory map. *Cell*. 114, 311-322.
- Denis, J.C., Allgier, J.G., Desouza, L.S., Eward, W.C., Morrison, E.E.** 2003. Immunohistochemistry of the canine vomeronasal organ. *Journal of anatomy*. 203 (3), 515 - 524.
- Doving, K.B., Trotier, D.** 1998. Structure and function of the vomeronasal. *The Journal of Experimental Biology*. 201, 2913-2925.
- Dulac, C., Axel, R.** 1995. A novel family of genes encoding putative pheromone receptors in mammals. *Cell*. 83, 195-206.
- Dulac, C., Torrelo, A.T.** 2003. Molecular detection of pheromone signals in mammals: from genes to behaviour. *Natur Reviews Neuroscience*. 4, 551-562.
- Dulac, C.** 2000. Sensory coding of pheromone signals in mammals. *Current Opinion in Neurobiology*. 10, 511-518.
- Dyson, G.M.** 1938. The scientific basis of odour. *Chemistry & Industry*. 57, 647-651.
- Fan, W., Liu, Y.C., Parimoo, S., Weissman, S.M.** 1995. Olfactory receptor-like genes are located in the human major histocompatibility complex. *Genomics*. 27, 119-123.
- Fleischer, J., Hass, N., Schwarzenbacher, K., Besser, S., Breer, H.** 2006. A novel population of neuronal cells expressing the olfactory nasal cavity. *Histochemistry and Cell Biology*. 125, 337-349.
- Fleischer, J., Breer, H., Strotmann, J.** 2009. Mammalian olfactory. *Frontiers in cellular neuroscience*. 3, 1 - 10.
- Fleischer, J., Schwarzenbacher, K., Breer, H.** 2007. Expression of trace amine-associated receptors in the Grueneberg ganglion. *Chemical senses*. 32, 623-631.

- Freitag, J., Ludwig, G., Andreini, I., Rössler, P., Breer, H.** 1998. Olfactory receptors in aquatic and terrestrial vertebrates. *Journal of comparative Physiology*. 183, 635-650.
- Freitag, J., Krieger, J., Strotmann, J., Breer, H.** 1995. Two classes of olfactory receptors in *Xenopus laevis*. *Neuron*. 15, 1383-1392.
- Friedrich, R.W., Korsching, S.I.** 1997. Combinatorial and chemotopic odorant coding in the zebrafish olfactory bulb visualized by optical imaging. *Neuron*. 18, 737-752.
- Friedrich, R.W., Korsching, S.I.** 1998. Chemotopic, combinatorial, and noncombinatorial odorant representations in the olfactory bulb revealed using a voltage-sensitive axon tracer. *Journal of Neuroscience*. 18, 9977-9988.
- Fukuda, N., Yomogida, K., Okabe, M., Touhara, K.** 2004. Functional characterization of a mouse testicular olfactory receptor and its role in chemosensing and in regulation of sperm motility. *Journal of Cell Science*. 117, 5835-5845.
- Furton, K.G., Myers, L.J.** 2001. The scientific foundation and efficacy of the use of canines as chemical detectors for explosive. *Talanta journal*. 54, 487-500.
- Fuss, S.H., Omura, M., Mombaerts, P.** 2005. The Grueneberg ganglion of the mouse projects axons to glomeruli in the olfactory bulb. *European Journal of Neuroscience*. 22, 2649-2654.
- Gaillard, I., Rouquier, S., Chavanieu, A., Mollard, P., Giorgi, D.** 2004. Amino-acid changes acquired during evolution by olfactory receptor 912-93 modify the specificity of odorant recognition. *Human Molecular Genetics*. 13, 771-780.
- Gilad, Y., Segré, D., Skorecki, K., Nachman, M.W., Lancet, D., Sharon, D.** 2000. Dichotomy of single-nucleotide polymorphism haplotypes in olfactory receptor genes and pseudogenes. *Nature Genetics*. 26, 221-224.
- Gilad, Y., Bustamante, C.D., Lancet, D., Pääbo, S.** 2003. Natural selection on the olfactory receptor gene family in humans and chimpanzees. *The American Journal of Human Genetics*. 73, 489-501.
- Gilad, Y., Lancet, D.** 2003. Population differences in the human functional repertoire. *Molecular Biology and Evolution*. 20, 307-314.
- Glusman, G., Yanai, I., Rubin, I., Lancet, D.** 2001. The complete human olfactory subgenome. *Genome Research*. 11, 685-702.
- Glusman, G., Bahar, A., Sharon, D., Pilpel, Y., White, J., Lancet, D.** 2000. The olfactory receptor gene superfamily: data mining, classification, and nomenclature. *Mammalian Genome*. 11, 1016 - 1023.

- Godfrey, P.A., Malnic, B., Buck, L.B.** 2004. The mouse olfactory receptor gene family. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 101, 2156-2161.
- Grosmaître, X., Santarelli, L.C., Tan, J., Luo, M., Ma, M.** 2007. Dual functions of mammalian olfactory sensory neurons as odor detectors and mechanical sensors. *Nature Neuroscience*. 10, 348-355.
- Grüneberg, H.** 1973. A ganglion probably belonging to the N. terminalis system in the nasal mucosa of the mouse. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* 140, 39-52.
- Grus, W.E., Shi, P., Zhang, Y., Zhang, J.** 2005. Dramatic variation of the vomeronasal pheromone receptor gene repertoire among five orders of placental and marsupial mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 102, 5767-5772.
- Halpern, M., Martínez-Marcos, A.** 2003. Structure and function of the vomeronasal system: an update. *Progress in Neurobiology*. 70, 245-318.
- Hansen, A., Zeiske, E.** 1997. The peripheral olfactory organ of the Zebrafish, *Danio rerio*: an ultrastructural study. *Chemical Senses*. 23, 39-48.
- Hansen, A., Anderson, K.T., Finger, T.E.** 2004. Differential distribution of olfactory receptor neurons in goldfish: structural and molecular correlates. *Journal of Comparative Neurology*. 477, 347-359.
- Haworth, K.E., Islam, I., Breen, M., Putt, W., Makrinou, E., Binns, M., Hopkinson, D., Edwards, Y.** 2001. Canine TCOF1; cloning, chromosome assignment and genetic analysis in dogs with different head types. *Mammalian Genome*. 12, 622-629.
- Hoppe, R., Lambert, T.D., Samollow, P.B., Breer, H., Strotmann, J.** 2006. Evolution of the "OR37" subfamily of olfactory receptors: a cross-species comparison. *Journal of Molecular Evolution*. 62, 460-472.
- Hughes, A.L.** 1993. Positive selection in a multi-nucleotide polymorphism haplotypes in olfactory receptor genes and pseudogenes. *Trends in Ecology & Evolution*. 82, 273-274.
- Hughes, A.L., Hughes, M.K.** 1993. Adaptive evolution in the rat olfactory receptor gene family. *Journal of Molecular Evolution*. 36, 249-254.
- Chen, W.K., Swartz, J.D., Rush, L.J., Alvarez, C.E.** 2009. Mapping DNA structural variation in dogs. *Genome Research*. 19, 500-509.
- Chess, A., Simon, I., Cedar, H., Axel, R.** 1994. Allelic inactivation regulates olfactory receptor gene expression. *Cell*. 78, 823-834.
- Church, J., Williams, H.** 2001. Another sniffer dog for the clinic?. *Lancet*. 358, 930.

- Issel-Tarver, L., Rine, J.** 1996. Organization and expression of canine olfactory receptor genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA.* 93, 10987-10902.
- Issel-Tarver, L., Rine, J.** 1997. The evolution of mammalian olfactory receptor genes. *Genetics.* 145, 185-195.
- Iwema, C.L., Fang, H., Kurtz, D.B., Youngentob, S.L., Schwob, J.E.** 2004. Odorant receptor expression patterns are restored in lesion-recovered rat olfactory epithelium. *The Journal of Neuroscience.* 24, 356-369.
- Kaluza, J.F., Gussing, F., Bohm, S., Breer, H., Strotmann, J.** 2004. Olfactory receptors in the mouse septal organ. *Journal of Neuroscience Research.* 76, 442-452.
- Katada, S., Hirokawa, T., Oka, Y., Suwa, M., Touhara, K.** 2005. Structural basis for a broad but selective ligand spectrum of a mouse olfactory receptor: mapping the odorant-binding site. *Journal of Neuroscience.* 25,1806-1815.
- Keller, A., Zhuang, H., Chi, Q., Vosshall, L.B., Matsunami, H.** 2007. Genetics variation in a human odorant receptor alters odour perception. *Nature.* 449, 468-472.
- Keller, A., Vosshall, L.B.** 2008. Better smelling through genetics: mammalian odor perception. *Current Opinion in Neurobiology.* 18, 364-369.
- Kent, P.F., Mozzel, M.M., Murphy, S.J., Hornung, D.E.** 1996. The interaction of imposed and inherent olfactory mucosal activity patterns and their composite representation in a mammalian species using voltage-sensitive dyes. *The Journal of Neuroscience.* 16, 345-353.
- Keverne, E.B.** 1999. The vomeronasal organ. *Science.* 286, 716-720.
- Kim, K.S., Lee, S.E., Jeong, H.W., Ha, J.H.** 1998. The complete nucleotide sequence of the domestic dog (*Canis familiaris*) mitochondrial genome. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 10, 210-220.
- Kim, R.N., Kim, D.S., Choi, S.H., Yoon, B.H., Kang, A., Nam, S.H., Kim, D.W., Kim, J.J., Ha, J.H., Toyoda, A., Fujiyama, A., Kim, A., Kim, M.Y., Park, K.H., Lee, K.S., Park, H.S.** 2012. Genome analysis of the domestic dog (Korean Jindo) by massively parallel sequencing. *DNA Research.* 19, 275-287.
- Kim, U., Wooding, S., Ricci, D., Jorde, L.B., Drayna, D.** 2005. Worldwide haplotype diversity and coding sequence variation at human bitter taste receptor loci. *Human Mutation.* 26, 199-204.
- Koos, D.S., Fraser, S.E.** 2005. The Grueneberg ganglion projects to the olfactory bulb. *NeuroReport.* 16, 1929-1932.

- Krieger, J., Schmitt, A., Löbel, D., Gudermann, T., Schultz, G., Breer, H., Boekhoff, I.** 1999. Selective activation of G protein subtypes in the vomeronasal organ upon stimulation with urine-derived compounds. *The Journal of Biological Chemistry*. 274, 4655-4662.
- Kubick, S., Strotmann, J., Andreini, I., Breer, H.** 1997. Subfamily of olfactory receptors characterized by unique structural features and expression patterns. *Journal of Neurochemistry*. 69, 465-475.
- Lancet, D., Sadovsky, E., Seidemann, E.** 1993. Probability model for molecular recognition in biological receptor repertoires: significance to the olfactory system. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 90, 3715-3719.
- Lancet, D., Gross-Isseroff, R., Margalit, T., Seidemann, E., Ben-Arie, N.** 1993. Olfaction: from signal transduction and termination to human genome mapping. *Chemical Senses*. 18, 217-225.
- Lancet, D., Ben-Arie, N.** 1993. Olfactory receptors. *Current Biology*. 3, 668-674.
- Lancet, D.** 1986. Vertebrate olfactory reception. *Annual Review of Neuroscience*. 9, 329-355.
- Lee, K., Nguyen, D.T., Choi, M., Cha, S.Y., Kim, J.H., Dadi, H., Seo, H.G., Seo, K., Chun, T., Park, Ch.** 2013. Analysis of cattle olfactory subgenome: the first detail study on the characteristics of the complete olfactory receptor repertoire of a ruminant. *BMC Genomics*. 14, 596.
- Leinders-Zufall, T., Brennan, P., Widmayer, P., Chandramani, P.S., Maul-Pavicic, A., Jäger, M., Li, X.H., Breer, H., Zufall, F., Boehm, T.** 2004. MHC class I peptides as chemosensory signals in the vomeronasal organ. *Science*. 306, 1033-1037.
- Leinders-Zufall, T., Lane, A.P., Puche, A.C., Ma, W., Novotny, M.V., Shipley, M.T., Zufall, F.** 2000. Ultrasensitive pheromone detection by mammalian vomeronasal neurons. *Nature*. 405, 792-796.
- Lesniak, A., Walczak, M., Jezierski, T., Sacharczuk, M., Gawkowski, M., Jaszczak, K.** 2008. Canine olfactory receptor gene polymorphism and its relation to odor detection performance by sniffer dogs. *Journal of Heredity*. 99(5), 518 - 527.
- Levai, O., Feistel, T., Breer, H., Strotmann, J.** 2006. Cells in the vomeronasal organ express odorant receptors but project to the accessory olfactory bulb. *Journal of Comparative Neurology*. 498, 476-490.
- Levai, O., Strotmann, J.** 2003. Projection pattern of nerve fibers from the septal organ: Dil-tracing studies with transgenic OMP mice. *Histochemistry and Cell Biology*. 120, 483-492.

**Liberles, S.D., Buck, L.B.** 2006. A second class of chemosensory receptors in the olfactory epithelium. *Nature*. 442, 645-650.

**Lindblad-Toh, K., Wade, C.M., Mikkelsen, T.S., Karlsson, E.K., Jaffe, D.B., Kamal, M., Clamp, M., Chang, J.L., Kulbokas, E.J., 3rd, Zody, M.C., Mauceli, E., Xie, X., Breen, M., Wayne, R.K., Ostrander, E.A., Ponting, C.P., Galibert, F., Smith, D.R., DeJong, P.J., Kirkness, E., 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., Bardeleben, C., Goodstadt, L., Heger, A., Hitte, C., Kim, L., Koepfli, K.P., Parker, H.G., Pollinger, J.P., Searle, S.M., Sutter, N.B., Thomas, R., Webber, C., Baldwin, J., Abebe, A., Abouelleil, A., Aftuck, L., Ait-Zahra, M., Aldredge, T., Allen, N., An, P., Anderson, S., Antoine, C., Arachchi, H., Aslam, A., Ayotte, L., Bachantsang, P., Barry, A., Bayul, T., Benamara, M., Berlin, A., Bessette, D., Blitshteyn, B., Bloom, T., Blye, J., Boguslavskiy, L., Bonnet, C., Boukhgalter, B., Brown, A., Cahill, P., Calixte, N., Camarata, J., Cheshatsang, Y., Chu, J., Citroen, M., Collymore, A., Cooke, P., Dawoe, T., Daza, R., Decktor, K., DeGray, S., Dhargay, N., Dooley, K., Dooley, K., Dorje, P., Dorjee, K., Dorris, L., Duffey, N., Dupes, A., Egbiremolen, O., Elong, R., Falk, J., Farina, A., Faro, S., Ferguson, D., Ferreira, P., Fisher, S., FitzGerald, M., Foley, K., Foley, C., Franke, A., Friedrich, D., Gage, D., Garber, M., Gearin, G., Giannoukos, G., Goode, T., Goyette, A., Graham, J., Grandbois, E., Gyaltsen, K., Hafez, N., Hagopian, D., Hagos, B., Hall, J., Healy, C., Hegarty, R., Honan, T., Horn, A., Houde, N., Hughes, L., Hunnicutt, L., Husby, M., Jester, B., Jones, C., Kamat, A., Kanga, B., Kells, C., Khazanovich, D., Kieu, A.C., Kisner, P., Kumar, M., Lance, K., Landers, T., Lara, M., Lee, W., Leger, J.P., Lennon, N., Leuper, L., LeVine, S., Liu, J., Liu, X., Lokyitsang, Y., Lokyitsang, T., Lui, A., Macdonald, J., Major, J., Marabella, R., Maru, K., Matthews, C., McDonough, S., Mehta, T., Meldrim, J., Melnikov, A., Meneus, L., Mihalev, A., Mihova, T., Miller, K., Mittelman, R., Mlenga, V., Mulrain, L., Munson, G., Navidi, A., Naylor, J., Nguyen, T., Nguyen, N., Nguyen, C., Nguyen, T., Nicol, R., Norbu, N., Norbu, C., Novod, N., Nyima, T., Olandt, P., O'Neill, B., O'Neill, K., Osman, S., Oyono, L., Patti, C., Perrin, D., Phunkhang, P., Pierre, F., Priest, M., Rachupka, A., Raghuraman, S., Rameau, R., Ray, V., Raymond, C., Rege, F., Rise, C., Rogers, J., Rogov, P., Sahalie, J., Settipalli, S., Sharpe, T., Shea, T., Sheehan, M., Sherpa, N., Shi, J., Shih, D., Sloan, J., Smith, C., Sparrow, T., Stalker, J., Stange-Thomann, N., Stavropoulos, S., Stone, C., Stone, S., Sykes, S., Tchuinga, P., Tenzing, P., Tesfaye, S., Thoulutsang, D., Thoulutsang, Y., Topham, K., Topping, I., Tsamla, T., Vassiliev, H., Venkataraman, V., Vo, A., Wangchuk, T., Wangdi,**

**T., Weiland, M., Wilkinson, J., Wilson, A., Yadav, S., Yang, S., Yang, X., Young, G., Yu, Q., Zainoun, J., Zembek, L., Zimmer, A., Lander, E.S.** 2005. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*. 438, 803-819.

**Lodovichi, C., Belluscio, L., Katz, L.C.** 2003. Functional topography of connections linking mirror-symmetric maps in the mouse olfactory bulb. *Neuron*. 38, 265-276.

**Mainland, J.D., Johnson, B.N., Khan, R., Ivry, R.B., Sobel, N.** 2005. Olfactory impairments in patients with unilateral cerebellar lesions are selective to inputs from the contralesional nostril. *The Journal of Neuroscience*. 25, 6362-6371.

**Malnic, B., Hirono, J., Sato, T., Buck, L.B.** 1999. Combinatorial receptor codes for odors. 96, 713-723.

**Malnic, B., Godfrey, P.A., Buck, L.B.** 2004. The human olfactory receptor gene family. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 101, 2584-2589.

**Marshall, D.A., Maruniak, J.A.** 1986. Masera's organ responds to odorants. *Brain Research*. 366, 329-332.

**Martini, S., Silvotti, L., Shirazi, A., Ryba, N.J., Tirindelli, R.** 2001. Co-expression of putative pheromone receptors in the sensory neurons of the vomeronasal organ. *The Journal of Neuroscience*. 21, 843-848.

**McCulloch, M., Jezierski, T., Broffman, M., Hubbard, A., Turner, K., Janecki, T.** 2006. Diagnostic accuracy of canine scent detection in early- and late-stage lung and breast cancers. *Integrative Cancer Therapies*. 5, 30-39.

**Menashe, I., Man, O., Lancet, D., Gilad, Y.** 2003. Different noses for different people. *Nature Genetics*. 34, 143-144.

**Menashe, I., Abaffy, T., Hasin, Y., Goshen, S., Yahalom, V., Luetje, Ch.W., Lancet, D.** 2007. Genetic elucidation of human hyperosmia to isovaleric acid. *PLOS Biology*. 5, 2463-2468.

**Menco, B.P., Bruch, R.C., Dau, B., Danho, W.** 1992. Ultrastructural localization of olfactory transduction components: the G protein subunit Golf alpha and type III adenylyl cyclase. *Neuron*. 8, 441-453.

**Meredith, M.** 1994. Chronic recording of vomeronasal pump activation in awake behaving hamsters. *Physiology and Behavior*. 56, 345-354.

**Miyamichi, K., Serizawa, S., Kimura, H.M., Sakano, H.** 2005. Continuous and overlapping expression domains of odorant receptor genes in the olfactory epithelium determine the



dorsal/ventral positioning of glomeruli in the olfactory bulb. *The Journal of Neuroscience*. 25, 3586-3592.

**Mombaerts, P., Wang, F., Dulac, C., Chao, S.K., Nemes, A., Mendelsohn, M., Edmondson, J., Axel, R.** 1996. Visualizing an olfactory sensory map. *Cell*. 87, 675-686.

**Mombaerts, P.** 2001. How smell develops. *Nature Neuroscience*. 4, 1192-1198.

**Mombaerts, P.** 1999. Molecular biology of odorant receptors in vertebrates. *Annual Review of Neuroscience*. 22, 487-509.

**Mori, K., Nagao, H., Yoshihara, Y.** 1999. The olfactory bulb: coding and processing of odor molecule information. *Science*. 286, 711-715.

**Nakamura, T., Gold, G.H.** 1987. A cyclic nucleotide-gated conductance in olfactory receptor cilia. *Nature*. 325, 442-444.

**Newman, T., Trask, B.J.** 2003. Complex evolution of 7E olfactory receptor genes in segmental duplications. *Genome Research*. 13, 781-793.

**Ngai, J., Chess, A., Dowling, M.M., Necles, N., Macagno, E.R., Axel, R.** 1993. Coding of olfactory information: topography of odorant receptor expression in the catfish olfactory epithelium. *Cell*. 72, 667-680.

**Ngai, J., Dowling, M.M., Buck, L., Axel, R., Chess, A.** 1993. The family of genes encoding odorant receptors in the channel catfish. *Cell*. 72, 657-666.

**Nicholas, T.J., Cheng, Z., Ventura, M., Mealey, K., Eichler, E.E., Akey, J.M.** 2009. The genomic architecture of segmental duplications and associated copy number variants in dog. *Genome Research*. 19, 491-499.

**Niimura, Y., Nei, M.** 2005. Comparative evolutionary analysis of olfactory receptor gene clusters between humans and mice. *Gene*. 346, 13-21.

**Nozawa, M., Kawahara, Y., Nei, M.** 2007. Genomic drift and copy number variation of sensory receptor genes in humans and mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 104, 20421-20426.

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

**Ostrander, E.A., Galibert, F., Patterson, D.F.** 2000. Canine genetics comes of age. *Trends in Genetics*. 16, 117-124.

**Parmentier, M., Libert, F., Schurmans, S., Schiffmann, S., Lefort, A., Eggerickx, D., Ledent, C., Mollereau, C., Gérard, C., Perret, J. et al.** 1992. Expression of members of the putative olfactory receptor gene family in mammalian germ cells. *Nature*. 355, 453-455.

- Patterson, D.F.** 2000. Companion animal medicine in the age of medical genetics. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 14, 1-9.
- Pederson, P.E., Benson, T.E.** 1986. Projection of septal organ receptor neurons to the main olfactory bulb in rats. *Journal of Comparative Neurology*. 252, 555-562.
- Poliseno, L., Salmena, L., Zhang, J., Brett, C., Haveman, W.J., Pandolfi, P.P.** 2010. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumor biology. *Nature*. 465, 1033-1038.
- Quignon, P., Kirkness, E., Cadieu, E., Touleimat, N., Guyon, R., Renier, C., Hitte, C., André, C., Fraser, C., Galibert, F.** 2003. Comparison of the canine and human olfactory receptor gene repertoires. *Genome Biology*. 4, R80.
- Quignon, P., Rimbault, M., Robin, S., Galibert, F.** 2012. Genetics of canine olfaction and receptor diversity. *Mammalian genome*. 23, 132 - 143.
- Quignon, P., Giraud, M., Rimbault, M., Lavigne, P., Tacher, S., Morin, E., Retout, E., Valin, A.S., Lindblad-Toh, K., Nicolas, J., Galibert, F.** 2005. The dog and rat olfactory receptor repertoires. *Genome Biology*. 6, R83.
- Quignon, P., Tacher, S., Rimbault, M., Galibert, F.** 2006. The dog olfactory and vomeronasal receptor repertoires. Ostrander, E.A., Giger, U., Lindblad-Toh, K., *The dog and its genome*. Cold Spring Harbor Monograph Archive. 221-231.
- Ressler, K. J., Sullivan, S. L., Buck, L.B.** 1994. Information coding in the olfactory system: evidence for a stereotyped and highly organized epitope map in the olfactory bulb. *Cell*. 79, 1245-1255.
- Ressler, K.J., Sullivan, S.L., a Buck, L.B.** 1993. A zonal organization of odorant receptor gene expression in the olfactory epithelium. *Cell*. 73, 597-609.
- Rimbault, M., Robin, S., Vaysse, A., Galibert, F.** 2009. RNA profiles of rat olfactory epithelia: individual and age related variations. *BMC Genomics*. 10, 572.
- Roberts, T., McGreevy, P., Valenzuela, M.** 2010. Human induced rotation and reorganization of the brain of domestic dogs. *PLOS ONE*. 5, e11946.
- Robin, S., Tacher, S., Rimbault, M., Vaysse, A., Dréano, S., André, C., Hitte, Ch., Galibert, F.** 2009. Genetic diversity of canine olfactory receptors. *BMC Genomics*. 10, 1471 – 2164.
- Rodolfo-Masera, T.** 1943. Su l'estistenza di un particolare organo olfattivo nel setto nasale della cavia e di altri roditori. *Archivio italiano di anatomia e di embriologia*. 48, 157-212.

- Rodriguez, I., Del Punta, K., Rothman, A., Ishii, T., Mombaerts, P.** 2002. Multiple new and isolated families within the mouse superfamily of VR vomeronasal receptors. *Nature Neuroscience*. 5, 134-140.
- Rodriguez, I.** 2005. Remarkable diversity of mammalian pheromone receptor repertoires. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 102, 6639-6640.
- Rodriguez, I., Feinstein, P., Mombaerts, P.** 1999. Variable patterns of axonal projections of sensory neurons in the mouse vomeronasal system. *Cell*. 97, 199-208.
- Rouquier, S., Taviaux, s., Trask, B.J., Brand-Arpon, V., van den Engh, G., Demaille, J., Giorgi, D.** 1998. Distribution of olfactory receptor genes in the human genome. *Nature Genetics*. 18, 243-250.
- Rouquier, S., Blancher, A., Giorgi, D.** 2000. The olfactory receptor gene repertoire in primates and mouse: evidence for reduction of the functional fraction in primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 97, 2870-2874.
- Rubin, B.D., Katz, L.C.** 1999. Optical imaging of odorant representations in the mammalian olfactory bulb. *Neuron*. 23, 499-511.
- Salazar, I., Cifuentes, J.M., Sánchez –Quinteiro, P.** 2013. Morphological and Immunohistochemical Features of the Vomeronasal System in Dog. *Anatomical record-advances in integrative anatomy and evolutionary biology*. 296, 146-155.
- Sam, M., Vora, S., Malnic, B., Ma, W., Novotny, M.V., Buck, L.B.** 2001. Neuropharmacology. Odorants may arouse instinctive behaviours. *Nature*. 412, 142.
- Sargan, D.R.** 2004. IDID: inherited diseases in dogs: web-based information for canine inherited disease genetics. *Mammalian Genome*. 15, 503-506.
- Savolainen, P. Zhang, Y. Luo, J., Lundeberg, J.,Leitner, T.** 2002. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. *Science*. 298, 1610-1613.
- Sharon, D., Glusman, G., Pilpel, Y., Horn-Saban, S., Lancet, D.** 1998. Genome dynamics, evolution and protein modeling in the olfactory receptor gene superfamily. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 855, 182-193.
- Sharon, D., Gilad, Y., Glusman, G., Khen, M., Lancet, D., Kalush, F.** 2000. Identification and characterization of coding single-nucleotide polymorphisms within a human olfactory receptor gene cluster. *Gene*. 260, 87-94.

- Sharon, D., Glusman, G., Pilpel, Y., Khen, M., Gruetzner, F., Haaf, T., Lancet, D.** 1999. Primate evolution of an olfactory receptor cluster: diversification by gene conversion and recent emergence of pseudogenes. *Genomics*. 61, 24-36.
- Schoenfeld, T.A., Clancy, A.N., Forbes, W.B., Macrides, F.** 1994. The spatial organization of the peripheral olfactory system of the hamster. Part I. Receptor neuron projections to the main olfactory bulb. *Brain Research Bulletin*. 34, 183-210.
- Schoenfeld, T.A., Cleland, T.A.** 2005. The anatomical logic of smell. *Trends in Neurosciences*. 28, 620-627.
- Schwanzel-Fukuda, M., Pfaff, D.W.** 2002. Angiogenesis in association with the migration of gonadotropic hormone-releasing hormone (GnRH) systems in embryonic mice, early human embryos and in a fetus with Kallmann's syndrome. *Progress in Brain Research*. 141, 59-77.
- Schwanzel-Fukuda, M., Silverman, A.J.** 1980. The nervus terminalis of the guinea pig: a new luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) neuronal system. *Journal of Comparative Neurology*. 191, 213-225.
- Sosinsky, A., Glusman, G., Lancet, D.** 2000. The genomic structure of human olfactory receptor genes. *Genomics*. 70, 49-61.
- Spehr, M., Gisselmann, G., Poplawski, A., Riffel, J.A., Wetzell, C.H., Zimmer, R.K., Hatt, H.** 2003. Identification of a testicular odorant receptor mediating human sperm chemotaxis. *Science*. 299, 2054-2058.
- Splendore, A., Fanganiello, R.D., Masotti, C., Morganti, L.S., Passos-Bueno, M.R.** 2005. TCOF1 mutation database: novel mutation in the alternatively spliced exon 6A and update in mutation nomenclature. *Human Mutation*. 25, 429-434.
- Stäubert, C., Bösel, I., Bohnekamp, J., Römpler, H., Enard, W., Schöneberg, T.** 2010. Structural and functional evolution of the trace amine-associated receptors TAAR3, TAAR4 and TAAR5 in primates. *PLOS ONE*. 5, e11133.
- Strotmann, J., Wanner, I., Krieger, J., Breer, H.** 1992. Expression of odorant receptors in spatially restricted subsets of chemosensory neurones. *NeuroReport*. 3, 1053-1056.
- Strotmann, J., Conzelmann, S., Beck, A., Feinstein, P., Breer, H., Mombaerts, P.** 2000. Local permutations in the glomerular array of the mouse olfactory bulb. *The Journal of Neuroscience*. 20, 6927-6938.

- Strotmann, J., Levai, O., Fleischer, J., Schwarzenbacher, K., Breer, H.** 2004. Olfactory receptor proteins in axonal processes of chemosensory neurons. *The Journal of Neuroscience*. 24, 7754-7761.
- Strotmann, J., Wanner, I., Helfrich, T., Beck, A., Breer, H.** 1994. Rostro-caudal patterning of receptor-expressing olfactory neurones in the rat nasal cavity. *Cell and Tissue Research*. 278, 11-22.
- Strotmann, J., Hoppe, R., Conzelmann, S., Feinstein, P., Mombaerts, P., Breer, H.** 1999. Small subfamily of olfactory receptor genes: structural features, expression pattern and genomic organization. *Gene*. 236, 281-291.
- Sullivan, S.L., Adamson, M.C., Ressler, K.J., Kozak, C.A., Buck, L.B.** 1996. The chromosomal distribution of mouse odorant receptor genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 93, 884-888.
- Sutter, N.B., Eberle, M.A., Parker, H.G., Pullar, B.J., Kirkness, E.F., Kruglyak, L., Ostrander, E.A.** 2004. Extensive and breed-specific linkage disequilibrium in *Canis familiaris*. *Genome Research*. 14, 2388-2396.
- Tacher, S., Quignon, P., Rimbault, M., Dreano, S., Andre, C., Galibert, F.** 2005. Olfactory receptor sequence polymorphism within and between breeds of dogs. *Journal of Heredity*. 96, 812-816.
- Tachiba, T., Fujiwara, N., Nawa, T.** 1990. The ultrastructure of the ganglionated nerve plexus in the nasal vestibular mucosa of the musk shrew (*Suncus murinus*, insectivora). *Archives of Histology and Cytology*. 53, 147-156.
- Tian, H., Ma, M.** 2004. Molecular organization of the olfactory septal organ. *Journal of Neuroscience*. 24, 8383-8390.
- Tortora, G.J., Grabowski, S.R.** 2003. *Principles of anatomy and physiology*. Wiley. - New York. 10.
- Trask, B.J., Massa, H., Brand-Arpon, V., Chan, K., Friedman, C., Nguyen, O.T., Eichler, E., van den Engh, G., Rouquier, S., Shizuya, H., Giorgi, D.** 1998. Large multi-chromosomal duplications encompass many members of the olfactory receptor gene family in the human genome. *Human Molecular Genetics*. 7, 2007-2020.
- Trask, B.J., Friedman, C., Martin-Gallardo, A., Rowen, L., Akinbami, C., Blankenship, J., Collins, c., Giorgi, D., Iadonato, S., Johnson, F., Kuo, W.L., Massa, H., Morrish, T., Naylor, S., Nguyen, O.T., Rouquier, S., Smith, T., Wong, D.J., Youngblom, J., van den Engh, G.** 1998.

Members of the olfactory receptor gene family are contained in large blocks of DNA duplicated polymorphically near the ends of human chromosomes. *Human Molecular Genetics*. 7, 13-26.

**Trinh, K., Storm, D.R.** 2003. Vomeronasal organ detects odorants in absence of signaling through main olfactory epithelium. *Nature Neuroscience*. 6, 519-525.

**Turin, L.** 2002. A Method for the Calculation of Odor Character from Molecular Structure. *Journal of Theoretical Biology*. 216, 367-385.

**Vanderhaeghen, P., Schurmans, S., Vassart, G., Parmentier, M.** 1997. Specific repertoire of olfactory receptor genes in the male germ cells of several mammalian species. *Genomics*. 39, 239-246.

**Vassar, R., Chao, S.K., Sitcheran, R., Nunez, J.M., Vosshall, L.B., Axel, R.** 1994. Topographic organization of sensory projections to the olfactory bulb. *Cell*. 79, 981-991.

**Vassar, R., Ngai, J., Axel, R.** 1993. Spatial segregation of odorant receptor expression in the mammalian olfactory epithelium. *Cell*. 74, 309-318.

**Vila, C., Savolainen, P., Maldonado, J.E., Amorim, I.R., Rice, J.E., Honeycutt, R.L., Crandall, K.A., Lundeberg, J., Wayne, R.** 1997. Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science*. 276, 1687-1689.

**Walensky, L.D., Ruat, M., Bakin, R.E., Blackshaw, S., Ronnett, G.V., Snyder, S.H.** 1998. Two novel odorant receptor families expressed in spermatids undergo 5'- splicing. *The Journal of Biological Chemistry*. 16, 9378-9387.

**Wang, F., Nemes, A., Mendelsohn, M., Axel, R.** 1998. Odorant receptors govern the formation of a precise topographic map. *Cell*. 93, 47-60.

**Weiler, E., Farbman, A.I.** 2003. The septal organ of the rat during postnatal development. *Chemical Senses*. 28, 581-593.

**Wheeler, D.A., Srinivasan, M., Egholm, M., Shen, Y., Chen, L., McGuire, A., He, W., Chen, Y.J., Makhijani, V., Roth, G.T., Gomes, X., Tartaro, K., Niazi, F., Turcotte, L., Irzyk, G.P., Lupski, J.R., Chinault, C., Song, X., Liu, Y., Yuan, Y., Nazareth, L., Qin, X., Muzny, D.M., Margulies, M., Weinstock, G.M., Gibbs, R.A., Rothberg, J.M.** 2008. The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. *Nature*. 452, 872-876.

**Whissell-Buechy, D., Amooore, J.E.** 1973. Odour-blindness to musk: simple recessive inheritance. *Nature*. 242, 271-273.

**Williams, H., Pembroke, A.** 1989. Sniffer dogs in the melanoma clinic?. *Lancet*. 1, 734.

- Willis, C.M., Church, S.M., Guest, C.M., Cook, W.A., McCarthy, N., Bransbury, A., Church, M.R.T., Church, J.C.T.** 2004. Olfactory detection of human bladder cancer by dogs: proof of principle study. *BMJ*. 329, 712.
- Wong, S.T., Trinh, K., Hacker, B., Chan, G.C., Lowe, G., Gaggar, A., Xia, Z., Gold, G.H., Storm, D.R.** 2000. Disruption of the type III adenylyl cyclase gene leads to peripheral and behavioral anosmia in transgenic mice. *Neuron*. 27, 487-497.
- Wysocki, C.J., Beauchamp, G.K.** 1984. Ability to smell androsterone is genetically determined. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 81, 4899-4902.
- Xu, F., Schaefer, M., Kida, I., Schafer, J., Liu, N., Rothman, D.L., Hyder, F., Restrepo, D., Shepherd, G.M.** 2005. Simultaneous activation of mouse main and accessory olfactory bulbs by odors or pheromones. *Journal of Comparative Neurology*. 489, 491-500.
- Yang, H., Shi, P., Zhang, Y.P., Zhang, J.** 2005. Composition and evolution of the V2R vomeronasal receptor gene repertoire in mice and rats. *Genomics*. 86, 306-315.
- Young, J.M., Friedman, C., Williams, E.M., Ross, J.A., Tonnes-Priddy, L., Trask, B.J.** 2002. Different evolutionary processes shaped the mouse and human olfactory receptor gene families. *Human Molecular Genetics*. 11, 535-546.
- Young, J.M., Kambere, M., Trask, B.J., Lane, R.P.** 2005. Divergent V1R repertoires in five species: Amplification in rodents, decimation in primates, and surprisingly small repertoire in dogs. *Genome Research*. 15, 231-240.
- Young, J.M., Endicott, R.M., Parghi, S.S., Walker, M., Kidd, J.M., Trask, B.J.** 2008. Extensive copy-number variation of the human olfactory receptor gene family. *The American Journal of Human Genetics*. 83, 228-242.
- Young, J.M., Massa, H.F., Hsu, L., Trask, B.J.** 2010. Extreme variability among mammalian V1R gene families. *Genome Research*. 20, 10-18.
- Young, J.M., Shykind, B.M., Lane, R.P., Tonnes-Priddy, L., Ross, J.A., Walker, M., Williams, E.M., Trask, B.J.** 2003. Odorant receptor expressed sequence tags demonstrate olfactory expression of over 400 genes, extensive alternate splicing and unequal expression levels. *Genome Biology*. 4, R71.
- Young, J.M., Trask, B.J.** 2007. V2R gene families degenerated in primates, dog and cow, but expanded in opossum. *Trends in Genetics*. 23, 212-215.
- Zhang, X., Rogers, M., Tian, H., Zhang, X., Zou, D.J., Liu, J., Ma, M., Shepherd, G.M., Firestein, S.J.** 2004b. High-throughput microarray detection of olfactory receptor gene

expression in the mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 101, 14168-14173.

**Zhang, X., Rodriguez, I., Mombaerts, P., Firestein, S.** 2004a. Odorant and vomeronasal receptor genes in two mouse genome assemblies. *Genomics*. 83, 802-811.

**Zhang, X., Firestein, S.** 2002. The olfactory receptor gene superfamily of the mouse. *Nature Neuroscience*. 5, 124-133.

**Zhang, X., Zhang, X., Firestein, S.** 2007. Comparative genomics of odorant and pheromone receptor genes in rodents. *Genomics*. 89, 441-450.

**Zheng, C., Feinstein, P., Bozza, T., Rodriguez, I., Mombaerts, P.** 2000. Peripheral olfactory projections are differentially affected in mice deficient in a cyclic nucleotide-gated channel subunit. *Neuron*. 26, 81-91.

**Zozulya, S., Echeverri, F., Nguyen, T.** 2001. The human olfactory receptor repertoire. *Genome Biology*. 2, 1-12.

**Zufall, F., Kelliher, K.R., Leinders-Zufall, T.** 2002. Pheromone detection by mammalian vomeronasal neurons. *Microscopy Research and Technique*. 58, 251-260.



## 6 Seznam použitých zkratk a vysvětlivky

**Array** – modifikace komparativní genomové hybridizace CGH (Comparative Genome Hybridization) molekulárně – cytogenetická metoda umožňující analýzu celého genomu v jediném experimentu

**A** = Adenin – Nukleová báze, purinová, tvoří komplementární pár s thyminem a uracilem (v RNA)

**BLAST** = Basic Local Alignment Search Tool – algoritmus používaný v biologii za účelem srovnávání primárních sekvenčních informací. Například porovnání nukleotidů DNA ze sekvencí DNA nebo sekvence aminokyselin z proteinů.

**BM** = Belgian Malinois – Belgický ovčák Malinois

**Bourgeonal** – aromatický aldehyd

**C** = Cytosin – Nukleová báze, pyrimidinová, tvoří komplementární pár s guaninem

**CNV** = Copy number variation – kopie počtu variací

**DNA** = deoxyribonukleová kyselina, nositel genetické informace

**ESP** = exocrine gland – secreting peptide – peptid exokrinní žlázy

**ESS** = English Springer Spaniel – Anglický špringršpaněl

**FCI** = Fédération Cynologique Internationale – Mezinárodní kynologická federace, největší organizace na světě

**G** = Guanin – Nukleová báze, purinová, tvoří komplementární pár s cytosinem

**GG** = Grueneberg ganglion – Gruenbergovo ganglium

**GPCR** = G-protein-coupled receptor – G proteinový receptor

**Grey** = Greyhound

**GSD** = German Shepherd dog- Německý ovčák

**Indel** – je biologický termín pro vložení nebo vypuštění bází v DNA organismu

**LD** = Linkage disequilibrium – vazebná nerovnováha

**LHRH** – hormon uvolňující luteinizační hormon

**Ligand** = koordinovaná skupina molekul

**LR** = Labrador Retriever – Labradorský retrívr

**Markerový protein** – Protein prostupující buněčnou membránou sloužící k identifikaci buňky

**MHC** = Hlavní histokompatibilitní komplex – místo na které se váží peptidy

**Mitrální buňka** – nervová buňka v čichové oblasti mozku

**MOB** = The main olfactory bulb – hlavní olfaktorický kyj

**MOE** = The main olfactory epithelium – hlavní čichový epitel

**N** – střední vzdálenost mezi dvěma SNP udána v nukleotidech

**MUP** = major urinary proteins – močové proteiny

**OB** = Olfactory bulb – čichový kyj

**OMP-GFP** = olfactory marker protein – green fluorescent protein – čichový proteinový marker – zelený fluorescenční protein

**OR** = Olfactory receptor – čichový receptor

**ORF** = open reading frame – otevřený čtecí rámec

**Ortologní gen** – homologní gen duplikovaný pomocí speciace

**OSN** = Olfactory sensory neuron – čichový sensorický neuron

**Pek** = Pekingesese – Pekingský palácový psík

**VNO** = The vomeronasal organ – Vomeronasální orgán

**SNP** = Single nucleotide polymorphisms – jedno nukleotidový polymorfismus

**SO** = Septal organ – Septální orgán

**Syntenie** – popisuje lokalizaci genetických lokusů na stejném chromozómu v rámci jednotlivce nebo druhu

**T** = Thymin – Nukleová báze, pyrimidinová, tvoří komplementární pár s adeninem

**TAAR** = trace amin-associated receptors –receptory spojené se stopovými aminy

**Transkriptom** – je množina všech molekul messenger RNA v jedné buňce nebo populaci buněk

**UKC** = United Kennel Club – Mezinárodní kynologická organizace působící v Americe

**VR** = vomeronasal receptors – vomeronasální receptory