

Charakterystyka genów z motywem T odpowiedzialnych za krótkoogoniastość i bezogoniastość oraz ich rola u wybranych gatunków zwierząt

Agata Czapla¹, Joanna Gruszczyńska¹, Paweł Sysa²

z Katedry Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt Wydziału Nauk o Zwierzętach¹ oraz Zakładu Histologii i Embriologii Katedry Nauk Morfologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie²

U wielu gatunków kręgowców i bezkręgowców za brak ogona odpowiedzialny jest gen należący do rodziny genów z motywem T. Gen *T/Brachyury* na etapie rozwoju zarodkowego bierze udział w procesie różnicowania struktur osiowych, takich jak struna grzbietowa czy cewa nerwowa. Dlatego bezogoniastość i krótkoogoniastość wywołana mutacją genu *T/Brachyury* wiąże się z występowaniem wielu innych wad ujawniających się głównie u homozygot w czasie rozwoju zarodkowego. Nieprawidłowości w rozwoju embrionalnym zwykle są przyczyną śmierci takich zarodków.

Rodzina genów z motywem T

Cechą charakterystyczną genów należących do rodziny genów z motywem T jest obecność konserwatywnej domeny, którą po raz pierwszy zidentyfikowano w genie *Brachyury* u myszy (1). Domena ta koduje region polipeptydowy, który nazwano kasetą T (T-box). Domena T, w zależności od gatunku zwierzęcia, koduje około 180–200 aminokwasów (2). Geny z sekwencją T odgrywają istotną rolę podczas rozwoju zarodkowego zarówno u bezkręgowców, jak i kręgowców. Geny te ulegają ekspresji w określonych tkankach zarodka

w trakcie gastrulacji i organogenezy oraz w niektórych tkankach organizmów dorosłych (2, 3, 4, 5).

Pierwszym odkrytym genem należącym do rodziny genów z motywem T był gen *Brachyury* zwany również genem *T* (od: tail – ogon), który jest odpowiedzialny za krótki ogon u myszy (2). W 1990 r. gen *T* został sklonowany, a późniejsze badania wykazały, że jest to gen, który koduje białko, będące czynnikiem transkrypcyjnym (2, 6). Jednak analiza molekularna genu *T* nie potwierdziła jego przynależności do żadnej znanej wówczas rodziny czynników transkrypcyjnych, a jego sekwencja nie okazała się zbliżona do sekwencji żadnego zbadanego już genu. W 1992 r. wraz z odkryciem homologii w sekwencji genu *T* u myszy, a nowo sklonowanym genem *omb Drosophila*, okazało się, że gen *T* nie jest jedynym genem z domeną T (6). Bollag i wsp. (2) w 1994 r. wykazali istnienie w genomie myszy rodziny genów „spokrewnionych” z genem *T*, którą nazwano rodziną genów z kasetą T. W kolejnych latach odkryto nowe geny z kasetą T, między innymi u: nicienia *Caenorhabditis elegans* (7), szkarłupni z rodzaju *Hemientrotus* (7), osłonicy z rodzaju *Ciona* (8) i *Halocynthia* (9), muszki owocowej (10), lancetnika (7), *Danio rerio* (11), *Xenopus laevis* (12), kury

domowej (13), psa domowego (4), bydła (14), królika (15) i człowieka (16).

W wyniku analizy filogenetycznej rodziny genów z kasetą T podzielono na 5 podrodzin (tab. 1).

Geny z kasetą T są bardzo starą ewolucyjnie grupą genów. Prawdopodobnie powstały u bezpośredniego przodka zwierząt wielokomórkowych. Sekwencja genu z kasetą T była obecna od początku ewolucji wielokomórkowców. Dalsza ekspansja polegała na duplikacji takiego genu w poszczególnych grupach zwierząt (2). Na podstawie analizy filogenetycznej można wnioskować, że genom większości gatunków zwierząt zawiera przynajmniej pięć genów z kasetą T, „spokrewnionych” z genami: *T*, *Tbx1*, *Tbx2*, *Tbx6* i *Tbr1* myszy.

W obrębie rodziny genów z kasetą T występuje korelacja między stopniem „spokrewnienia” a miejscem ekspresji. Istniejący związek ma dwa niezależne aspekty:

1. Wewnątrzgatunkowy – blisko spokrewnione, niebędące ortologami geny tej samej podrodziny mogą ulegać ekspresji w tych samych obszarach zarodka, na przykład: pary genów *mu-Tbx2/Tbx3* i *mu-Tbx4/Tbx5*, które wykazują podobny wzór ekspresji (17) oraz wyraźne podobieństwo sekwencji nukleotydowej. Można uznać, że te i inne stosunkowo niedawno powstałe pary genów pełnią te same funkcje w obszarze ich wspólnej ekspresji, a unikalną funkcję w obszarze, gdzie podlegają ekspresji indywidualnie.
2. Międzygatunkowy – ortologiczne geny zachowują podobieństwo miejsca ekspresji i pełnionej funkcji (2), na przykład: geny homologiczne z genem *Brachyury* czy przedstawiciele podrodziny genów *Tbx2*. Geny te wykazują podobny wzór ekspresji oraz pełnią zbliżone funkcje u gatunków tak różnych, jak kura domowa, mysz domowa, człowiek czy muszka owocowa (2).

Struktura białek z domeną T

Białka z domeną T kodowane są przez geny zawierające sekwencję T (kasetę T). Białka z domeną T mają zwykle masę od 50 do 78 kDa, w zależności od rodzaju białka i gatunku zwierzęcia. Wykazano, że białko *Brachyury* wiąże w specyficzny sposób DNA i funkcjonuje jako aktywator transkrypcji (1, 5, 9, 10, 18). Analiza krystalograficzna domeny T białka *Xbra* *Xenopus laevis* wykazała, że domena ta nie przypomina żadnej innej domeny wiążącej DNA i jest specyficzna tylko dla tej rodziny białek (19). Badania nad kolejnymi białkami z domeną T wskazały na obecność co najmniej dwóch domen: wiążącej DNA, która jest sekwencyjnie specyficzna (T-box) oraz regulacyjnej (3, 5).

Demay i wsp. (20) wykazali, że białko *Tbx2* rozpoznaje i wiąże wysoce skondensowaną chromatynę mitotyczną, jądrowe DNA oraz oddziałuje specyficznie z N-końcowym odcinkiem histonu H3 (20).

Budowa i funkcje domeny T

Domena T, będąca regionem wielkości około 200 aminokwasów, jest niezbędna i wystarczająca do specyficznego wiązania sekwencji DNA (2, 3, 5, 10, 18). Należy ona do jednych z większych domen wiążących DNA – stanowi około 1/3 masy całego białka T (17–26 kDa). Poszczególne białka T u różnych gatunków zwierząt różnią się stopniem homologii w obrębie domeny T. Jednak istnieją pewne regiony, które są w 100% konserwatywne. W zależności od stopnia podobieństwa białka z domeną T zostały dodatkowo podzielone na podrodziny (5). Białka te wiążą DNA w różny sposób, mogą tworzyć homo- lub heterodimery. Na przykład białko *Brachyury* chętnie wiąże sekwencję palindromową T(G/C)ACACCTAGGTGTGAAATT jako dimer (10). Wykazano również, że *Brachyury* może wiązać półpalindromowe sekwencje, takie jak (T/C)TTCACACCT (21, 22).

Müller i Hermann (19) wykazali, że białko *Xbra* wiąże się z DNA jako dimer. Białko to oddziałuje z mniejszym i większym rowkiem w DNA. C-końcowa helisa białka jest głęboko wsunięta w powiększony większy rowek DNA, przy czym nie następuje zginanie podwójnej helisy DNA (19).

Inne białko z domeną T, białko *Mga*, posiada dodatkowo domenę o charakterze suwaka leucynowego (basic helix-loop-helix leucine zipper – bHLH-zip), za pomocą którego białko to łączy się z białkiem *Max*. W wyniku tej dimeryzacji białko *Mga* funkcjonuje jako aktywator transkrypcyjny

The characteristics of T-box genes responsible for shortened tail and taillessness – their role in selected animal species

Czapla A.¹, Gruszczyńska J.¹, Sysa P.²,
Department of Genetics and Animal Breeding,
Faculty of Animal Sciences ¹, Department of
Morphological Sciences Division of Histology
and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine²,
Warsaw University of Life Sciences – SGGW

The purpose of this paper was to describe the T-box genes and their function in selected animal species. T-box genes are crucial in normal embryonic development. These genes are expressed in specific tissues of the embryo during gastrulation and organogenesis and in certain tissues of adult organisms. The T-box genes play a significant role during embryonic development both in the invertebrates and vertebrates. Mutations of these genes lead to major developmental anomalies of tissues and organs derived from embryonic posterior mesoderm. The first T-box gene described was *Brachyury* gene, also known as T-box gene (T, from “tail”). Mutation in this gene causes short-tail phenotype in mice. In other animal species taillessness is also caused by mutation in gene of T-box genes family. During embryonic development *T/Brachyury* is involved in differentiation of axial structures such as the notochord or the neural tube. Therefore tail-absent and short-tailed phenotypes are associated with a number of other defects that occur during embryonic development. These abnormalities usually cause death of developing embryos. It is therefore essential to the human and animal health to design reliable tests for identifying carriers of specific mutations.

Keywords: T-box gene family, mutations, short-tail, taillessness.

Tabela 1. Podział rodziny genów z kasetą T u różnych gatunków zwierząt na podrodziny (2, 17)

T	Podrodzina			
	Tbx1	Tbx2	Tbx6	Tbr1
<i>hu-T</i>	<i>hu-Tbx1</i>	<i>hu-Tbx2</i>	<i>hu-Tbx6</i>	<i>hu-Tbr1</i>
<i>hu-Tbx19</i>	<i>hu-Tbx10</i>	<i>hu-Tbx3</i>	<i>mu-Mga</i>	<i>hu-eomesodermin</i>
<i>mu-T</i>	<i>hu-Tbx15</i>	<i>hu-Tbx4</i>	<i>mu-Tbx6</i>	<i>hu-Tbx21</i>
<i>ch-T</i>	<i>hu-Tbx18</i>	<i>hu-Tbx5</i>	<i>ch-Tbx6L</i>	<i>mu-Tbr1</i>
<i>Xbra</i>	<i>hu-Tbx20</i>	<i>mu-Tbx2</i>	<i>x-VegT</i>	<i>x-Eomes</i>
<i>zf-T</i>	<i>hu-Tbx22</i>	<i>mu-Tbx3</i>	<i>zf-Tbx6</i>	<i>am-Eomes/Tbr1/</i> <i>Tbx21</i>
<i>amBra-1</i>	<i>mu-Tbx1</i>	<i>mu-Tbx4</i>	<i>am-Tbx6/16</i>	
<i>amBra-2</i>	<i>dm-H15</i>	<i>mu-Tbx5</i>		
<i>ch-TbxT</i>	<i>ce-tbx12</i>	<i>ch-Tbx3</i>		
<i>as-T</i>	<i>am-Tbx1/10</i>	<i>ch-Tbx5</i>		
<i>dm-Trg</i>	<i>am-Tbx15/18/22</i>	<i>x-ET</i>		
<i>su-Ta</i>	<i>am-Tbx20</i>	<i>dm-omb</i>		
		<i>ce-tbx2</i>		
		<i>am-Tbx2/3</i>		
		<i>am-Tbx4/5</i>		

Objaśnienia: *hu* – human (człowiek); *mu* – murine (mysz); *ch* – chick (kura); *x* – *Xenopus laevis*; *zf* – zebrafish (danio pręgowane); *dm* – *Drosophila melanogaster* (muszka owocowa); *am* – amphioxus (lancetnik); *ce* – *Caenorhabditis elegans*; *su* – sea urchin (szkarłupnie); *as* – ascidian (osłonice)

o potencjalnej podwójnej specyficzności. Reguluje ono geny posiadające, albo miejsce wiążące białko Max, albo miejsce wiążące domenę T (23).

U ludzi białko Tbx 22 posiada skróconą domenę T. W związku z brakiem kompletnej domeny białko to prawdopodobnie nie wiąże DNA. Wynika z tego, że białko Tbx22 pełni inną rolę niż pozostałe białka należące do rodziny białek z domeną T (24).

Budowa i funkcje domen regulacyjnych

Domeny regulacyjne znajdują się na końcu C białka z domeną T. Wykazano, że białka z domeną T mogą funkcjonować jako aktywatory lub represory transkrypcji. Jednak większość białek pełni rolę aktywatorów transkrypcji.

Białko Tbx2 człowieka działa jako represor (25). Tbx2 jest represorem promotora TRP-1 (tyrosinase-related protein 1 – TRP-1) specyficznego dla melanocytów. Linie komórkowe melanocytów i melanoblastów, ale nie prekursorów melanoblastów, wykazują ekspresję genu *Tbx2*. Mimo że elementy MSEu i MSEi (melanocyte specific elements – MSE) w obrębie promotora TRP-1 są rozpoznawane zarówno przez białko Tbx2, jak i MSF (melanocyte-specific factor – MSF), ale jedynie Tbx2 wiąże wymienione elementy. Wiązanie elementów MSE przez białko Tbx2 koreluje z hamowaniem transkrypcji TRP-1. Wykazano, że mutacja jednego z elementów promotora TRP-1, w wyniku której nie podlega on represji prowadzi do zmniejszenia wiązania przez białko Tbx2 (25).

He i wsp. (26) wykazali, że białko eomesodermin żaby *Xenopus*, ortolog białka Tbx3 człowieka, funkcjonuje jako represor transkrypcji (26). Carlson i wsp. (27) potwierdzili tę funkcję dla białka Tbx3 u ludzi. Domena represyjna (RD1) znajduje się między 567 a 623 aminokwasem białka Tbx3 i jest dominująca wśród innych domen tego białka, które wykazują zdolność aktywacji transkrypcji (27).

Miejsce występowania i rola białek z domeną T

Geny należące do rodziny genów z motywem T są swoiste komórkowo i odpowiadają

za różnicowanie komórek. Geny te ulegają ekspresji w określonych typach komórek lub określonych narządach podczas rozwoju embrionalnego i są niezbędne do prawidłowego rozwoju tych komórek. Wykazano, że białka z domeną T, których lokalizacja wewnątrzkomórkowa była analizowana, występują wyłącznie wewnątrz jądra komórkowego. Taka lokalizacja białek z domeną T, ich zdolność do wiązania DNA oraz regulacji transkrypcji pozwala na spełnianie funkcji regulacyjnej podczas rozwoju. O ważnej roli białek z domeną T świadczy również fakt, iż zmutowane allele kodujące te białka ujawniają się w fenotypie u heterozygot. Oznacza to, że niedobór białek z domeną T w istotny sposób wpływa na rozwój organizmu. Geny z motywem T ulegają ekspresji w tych komórkach, w których są niezbędne do ich prawidłowego różnicowania się (1, 5, 28, 29, 30).

Część genów z motywem T jest potrzebna również w późniejszych stadiach rozwoju. Na przykład geny *Tbx2*, *Tbx3*, *Tbx4* i *Tbx5* odgrywają istotną rolę w różnicowaniu się komórek, które odpowiadają za rozwój kończyn. Geny *Tbx2* i *Tbx3* ulegają ekspresji w zawiązkach wszystkich kończyn, gen *Tbx4* w zawiązkach kończyn tylnych, a *Tbx5* w zawiązkach kończyn przednich (5, 17, 26, 31).

Obecność wielu wad u zwierząt i ludzi związanych z mutacjami genów z motywem T może świadczyć o tym, jak istotną rolę odgrywają te geny w rozwoju i różnicowaniu się komórek. Na przykład u myszy gen *Tbx6* ulega ekspresji w smudze pierwotnej oraz zawiązku ogona. W wyniku mutacji tego genu następuje różnicowanie się trzech cew nerwowych (3). Z kolei u człowieka mutacje genów *Tbx* są przyczyną wielu chorób. Spis chorób człowieka wywołanych mutacjami genów z motywem T przedstawiono w tabeli 2.

Rola genu T u wybranych gatunków zwierząt

Gen *Brachyury* u myszy domowej

Jak już wspomniano wcześniej, pierwszym wykrytym oraz opisanym genem należącym do rodziny genów z motywem T jest

gen *Brachyury/T* u myszy (36). Dobrovolskaia-Zavadskaia jako pierwsza w 1927 r. opisała fenotyp myszy z mutacją tego genu (2, 37). Najbardziej widoczną wadą u heterozygotycznych myszy jest brak ogona. Homozygotyczne zarodki myszy z mutacją obu alleli *T* giną w krótkim czasie po zakończeniu gastrulacji i wykazują nieprawidłowości w budowie mezodermy, łącznie z całkowitym jej brakiem w tylnej części ciała zarodka (28, 29).

W 1991 r. Herrmann i wsp. (1) sklonowali gen *T* myszy. Gen ten koduje białko długości 436 aminokwasów (37). Miejsce w chromosomie, w którym znajduje się gen *Brachyury* nazwano kompleksem *T/t*. Jest to duża jednostka o wielkości 15 cM zawierająca kompleks H2 oraz dwa inne geny, które być może oddziałują lub są odpowiedzialne za fenotyp zbliżony do tego wywołanego przez mutację genu *T* – małe *t* (*t*) i *Brachyury* drugi – *T2* (37). Stwierdzono, że pierwotna mutacja genu *T* u myszy polega na delecji 200 kpz (4), w wyniku której powstają mutanty nieposiadające tego genu. Natomiast mutacje alleli warunkujących poważniejsze zmiany w fenotypie polegają na insercji lub delecji mniejszego fragmentu genu, które w rezultacie prowadzą do powstawania niekompletnych białek o zmienionej aktywności (37).

Podczas prawidłowo przebiegającego rozwoju u myszy trzy pierwotne listki zarodkowe (ektoderma, endoderma i mezoderma) powstają w wyniku przemieszczania się wewnętrznej warstwy komórek epiblastu między warstwę przyszłej ektodermy pierwotnej a zewnętrzną warstwę endodermy pierwotnej. W wyniku stopniowego przemieszczania się komórek mezodermy i endodermy, rozpoczynającego się w tylnej części zarodka, powstaje smuga pierwotna. W dalszym etapie rozwoju komórki mezodermy opuszczają smugę pierwotną, migrują w kierunku bocznym i przednim zajmując boczną oraz grzbietową pozycję wzdłuż przednio-tylnej osi zarodka i tworzą struktury osiowe i przyosiowe, takie jak somity czy struna grzbietowa (36, 38).

W homozygotycznych zarodkach smuga pierwotna jest bardziej skondensowana i cieńsza w stosunku do smugi pierwotnej zarodków bez mutacji genu *Brachyury* (28, 29, 36). Yanagisawa i wsp. (36) zaobserwowali, że ósmego dnia rozwoju zarodkowego w tylnej części zarodka *T^{-/-}* stosunek ektodermy do mezodermy jest podwyższony o 15%, podczas gdy pozostaje prawidłowy w części przedniej. Ponieważ wskaźnik mitotyczny (stosunek komórek dzielących się do nie dzielących się) przedniej i tylnej części zarodka był prawidłowy, wysunięto hipotezę, że u podstawy późniejszych nieprawidłowości leży zmiana w adhezji komórek (36). Pomiar migracji komórek

Tabela 2. Choroby człowieka wywołane mutacjami w genach z motywem T

Gen	Chromosom	Miejsce ekspresji	Fenotyp heterozygoty	Autor
<i>Tbx1</i>	22	serce i łuki gardłowe	zespół DiGeorge'a	5, 32
<i>Tbx3</i>	12	kończyny i serce	zespół łokciowo-sutkowy	5
<i>Tbx5</i>	12	kończyny górne	zespół Holta-Orama	5, 17
<i>Tbx19</i> (Tpit)	1	przysadka	izolowany niedobór adrenokortykotropiny	33, 34
<i>Tbx22</i>	X	tkanki płodu	sprzężony z chromosomem X rozszczep podniebienia i przyrośnięcie języka	24, 35

mezodermy w macierzy zewnątrzkomórkowej wykazały ograniczoną migrację komórek z mutacją genu *Brachyury* w porównaniu do komórek prawidłowych (39). Rola genu *Brachyury* w adhezji komórek została dodatkowo poparta przez analizę *in vivo*, która wykazała upośledzoną zdolność migracji komórek macierzystych zarodka T^{-/-} ze smugi pierwotnej. Komórki nie przemieszczają się, a więc następuje ich akumulacja (30, 36, 40, 41). Ostatecznie dochodzi do programowanej śmierci komórek nagromadzonych w smudze pierwotnej (42). Również komórki mezodermy pozazarodkowej mają upośledzoną zdolność migracji. Prowadzi to do zaburzeń w budowie omocznicy, która nie tworzy połączenia z kosmówką. Brak właściwego połączenia w obrębie łożyska, a zatem brak dopływu składników odżywczych jest przyczyną śmierci zarodka około połowy jedenastego dnia życia (28, 29, 30).

Wady w rozwoju homozygotycznych myszy T^{-/-}, obok smugi pierwotnej, dotyczą również struny grzbietowej. U takich myszy tylna część zarodka jest pozbawiona struny grzbietowej, a obecność komórek podobnych do prekursorowych struny grzbietowej w przedniej części zarodka nie zapewnia jej prawidłowego różnicowania (24, 43). Struna grzbietowa powstaje z populacji komórek prekursorowych, których nieprawidłowa struktura jest widoczna u homozygot około połowy ósmego dnia rozwoju zarodkowego. Oprócz wad w różnicowaniu smugi pierwotnej i struny grzbietowej opisano szereg nieprawidłowości w rozwoju zarodkowym homozygotycznych (T^{-/-}) myszy (24, 43). Większość wad, jak na przykład brak tylnych somitów, wydaje się wadami wtórnymi w stosunku do braku modulatorycznego wpływu prawidłowo zróżnicowanej struny grzbietowej (1, 24).

Analiza chimer i analiza fenotypowa wykazały, że gen *Brachyury* działa w sposób komórkowo autonomiczny (30). Dlatego komórkami bezpośrednio dotkniętymi brakiem prawidłowego genu *Brachyury* są przede wszystkim te, w których wymieniony gen ulega ekspresji. W zarodkach typu dzikiego ekspresja genu *Brachyury* zachodzi w smudze pierwotnej na początku gastrulacji i przez krótki okres utrzymuje się w komórkach nowo utworzonej mezodermy oraz w sąsiednich komórkach epiblastu. Kiedy przyszłe przyosiowe komórki mezodermy migrują w kierunku bocznym, gen *Brachyury* ulega tak zwanej regulacji w dół do poziomu niewykrywalnego przez hybridyzację *in situ*. W tym czasie jego ekspresja w strunie grzbietowej jest kontynuowana na wysokim poziomie (1, 24). Analiza zarodków myszy sugeruje, że produkt genu *Brachyury* jest potrzebny podczas gastrulacji w celu ukierunkowania komórek

epiblastu w komórki mezodermy. Taka specyfikacja komórek epiblastu może się wiązać z zapoczątkowaniem ruchu morfogenetycznego tych komórek i ich migracją. Poza tym gen *Brachyury* może brać udział w utrzymywaniu struny grzbietowej w stanie zróżnicowanym (24).

Gen *Xbra* u *Xenopus laevis*

W 1991 r. Smith i wsp. (12) sklonowali homolog genu *Brachyury* występujący u żaby *Xenopus* – gen *Xbra*. Białko kodowane przez gen *Xbra* złożone jest z 432 aminokwasów i wykazuje 75% homologię z białkiem *Brachyury* myszy. Ekspresję genu *Xbra* w zarodku żaby obserwuje się od połowy stadium blastuli do stadium neuruli. Przy czym najwyższy poziom ekspresji obserwuje się tak, jak i w zarodku myszy podczas gastrulacji. Hybridyzacja *in situ* pokazała, że ekspresja genu *Xbra* ma miejsce w komórkach przyszłej mezodermy zlokalizowanych wokół prągnięcia. Pod koniec gastrulacji poziom transkryptów zanika, ale utrzymuje się dłużej na wysokim poziomie w strunie grzbietowej (12).

Fenotyp zarodków żaby *Xenopus* z mutacją genu *Xbra* wskazuje, że gen ten jest niezbędny do prawidłowego rozwoju mezodermy. Z kolei badania nadekspresji genu *Xbra* pokazują, że jest on również wystarczający podczas powstawania mezodermy brzusznej i mezodermy bocznej. Stąd brak ekspresji *Xbra* w tkance przyszłej ektodermy przyczynia się do powstawania mezenchymy i mięśni w sposób zależny od ilości białka *Xbra* i aktywuje ekspresję genów specyficznych dla mezodermy, jak na przykład aktywny mięśnia sercowego (44). Nadekspresja *Xbra* nie prowadzi do procesu tworzenia struny grzbietowej, ale już koekspresja *Xbra* z inhibitorem BMP *noggin*, czy koekspresja *Xbra* z genem *Pintallavis*, umożliwia powstawanie struny grzbietowej (44). Powyższe obserwacje wskazują na kluczową rolę genu *Brachyury* w formowaniu mezodermy u kręgowców.

Gen *ntl* u ryby *Danio rerio*

Badania nad rybą danio przegowanym (*Danio rerio*) wykazały, że rola genu *Brachyury* w morfogenezie i kontrolowaniu programów rozwojowych komórek mezodermy jest ewolucyjnie konserwatywna. W odróżnieniu od myszy ryby heterozygotyczne pod względem mutacji genu *ntl* (no tail – *ntl*), homologa genu *Brachyury* (45), nie wykazują żadnych widocznych wad fenotypowych. Z kolei homozygoty *ntl* mają fenotyp przypominający fenotyp homozygotycznych myszy pod względem genu T. Ryby te są pozbawione zróżnicowanej struny grzbietowej i od jedenastu do trzynastu tylnych somitów spośród trzydziestu (45).

Tak jak u myszy, wywodzące się z somitów miotomy u mutantów *ntl* są zdeorganizowane i nie przyjmują charakterystycznego kształtu, jaki się obserwuje u zarodków typu dzikiego. Mimo to miotomy zawierają komórki zróżnicowane we włókna mięśniowe. Badania gastrulacji zarodków *ntl*^{-/-} wykazały, że wczesne ruchy komórek zachodzą normalnie. Jednak ich późniejsze rozmieszczenie jest nieprawidłowe (46). Komórki mezodermy osiowej są rozrzucone wzdłuż linii środkowej ciała, ale nie tworzą wyraźnego zawiązka struny grzbietowej (36). Homozygotyczne zarodki *Danio rerio* w porównaniu z zarodkami myszy giną stosunkowo późno, bo zaraz po wylęgnięciu się (45).

Halpern i wsp. (36) tworzyli chimery przez przeszczepianie do zarodków typu dzikiego komórek z mutacją genu *ntl*. Zmutowane komórki nie współpracowały w formowaniu struny grzbietowej. Natomiast komórki prawidłowe przeszczepione do zarodków *ntl*^{-/-} różnicowały się w strunę grzbietową. Badania te wskazują na autonomiczność komórek, w których gen *ntl* podlega ekspresji oraz na niezbędny udział białka *ntl* w prawidłowym różnicowaniu się struny grzbietowej.

W przedniej części zarodka rozwój ośrodkowego układu nerwowego przebiega prawidłowo. Modulujący wpływ cewy nerwowej jest zachowany wzdłuż osi przednio-tylnej i grzbietowo-brzusznej i obecna jest płytka podłogowa cewy nerwowej (grupa komórek cewy nerwowej o innych właściwościach i pochodzeniu niż pozostałe części cewy nerwowej). Wiadomo, że modulujący wpływ cewy nerwowej jest częściowo uzależniony od sygnałów pochodzących z przyległej struny grzbietowej. Oznacza to, że gdy przerwana jest morfogeneza struny grzbietowej u mutantów *ntl*^{-/-} źródło tych sygnałów musi wciąż istnieć. Analiza komórek mezenchymalnych płytki podłogowej cewy nerwowej mutantów *ntl*^{-/-} wykazała, że komórki płytki podłogowej i komórki struny grzbietowej mają wspólne pochodzenie (36). Na podstawie tego odkrycia postawiono hipotezę, że komórki płytki podłogowej cewy nerwowej są komórkami prekursorowymi struny grzbietowej i zachowują niektóre cechy komórek struny grzbietowej. Zatem komórki płytki podłogowej cewy nerwowej, posiadające cechy komórek struny grzbietowej, mogą zastąpić w pewnym stopniu brak prawidłowej struny grzbietowej u ryb. Wskazują, że gen ten nie jest niezbędny we wszystkich procesach różnicowania struny grzbietowej, jednak jest zasadniczym elementem genetycznych szlaków biorących udział w regulacji morfogenezy i funkcji komórek (36).

Białko *ntl* jest zbudowane z 423 aminokwasów. Udało się wyizolować dwa allele

z mutacją genu *ntl*. Mutacja allelu *ntl*^{b160} prowadzi do tworzenia skróconego białka złożonego z 245 aminokwasów. Polega ona na zamianie sekwencji CG→AGCTGT na granicy intronu i eksonu szóstego, co prowadzi do zmiany ramki odczytu i przedwczesnej terminacji transkrypcji. Natomiast mutacja allelu *ntl*^{b195} polega na insercji fragmentu o długości 1,5 kbp w eksonie drugim. W rezultacie powstaje skrócone białko, które jest zbudowane z pierwszych 103 N-końcowych aminokwasów występujących w białku typu dzikiego oraz 35 aminokwasów kodowanych przez insert zawierający kodon stop (45).

Gen *Tu* kury domowej

W 1995 r. Kispert i wsp. (47) sklonowali gen *T* kury domowej (*ch-T*). Gen *ch-T* koduje białko złożone z 433 aminokwasów i w obrębie domeny T jest w 96% identyczne z białkiem T myszy. Ekspresja genu *ch-T* rozpoczyna się wraz z początkiem powstawania smugi pierwotnej i jest kontynuowana do czasu wytworzenia zawiązków wszystkich narządów. W zarodku kury białko T jest początkowo wykrywane w komórkach smugi pierwotnej, a następnie struny grzbietowej i w zawiązku ogona. Porównanie miejsca ekspresji genu *T* u kury z ekspresją genu *T* u myszy (47), genu *Xbra* u *Xenopus* (12) i genu *ntl* u *Danio rerio* (11) wskazuje na wysoki konserwatyzm wzoru ekspresji genu T u kręgowców. Białko T u tych czterech gatunków jest przejściowo wykrywane w komórkach ektodermy pierwotnej (epiblast), które będą migrowały do wnętrza zarodka i tworzyły warstwę mezo-endodermalną. Zaraz po zakończeniu migracji ekspresja genu *T* podlega regulacji w dół w różnicujących się komórkach mezo- i endodermy (47).

Gen *Tu* psa domowego

Haworth z zespołem (4) sklonowali gen *T* psa domowego. Gen *T* psa, homolog genu *Brachyury* u myszy, znajduje się w chromosomie 1q23. Dziedziczna bezogoniastość (anury) i krótkoogoniastość (brachyury) dotyczy takich ras psów, jak: beagle, cocker spaniel czy pembroke welsh corgi i może być dziedziczona w zależności od rasy psa w sposób recesywny, dominujący lub przez dominację niezupełną (4). Długość ogona u psów ze skróconym ogonem rasy pembroke welsh corgi jest zmienna. Spotykane są psy całkowicie pozbawione kręgów ogonowych oraz takie, które mają ogon długości połowy długiego ogona, który czasami może tworzyć załamania (48). Dla porównania, inny typ krótkoogoniastości występuje w rasie buldog angielski, w której prawdopodobnie jest dziedziczony w sposób recesywny. Wszystkie psy

krótkoogoniaste rasy buldog angielski mają ogon krótki z wieloma załamaniami (48). Natomiast w niektórych rasach psów rodzą się czasem szczenięta krótkoogoniaste po rodzicach z długim ogonem, co wskazuje albo na różne sposoby dziedziczenia krótkiego ogona, albo na różnice w penetracji genu odpowiedzialnego za występowanie tej cechy (48).

W wyniku analizy sekwencji DNA genu *T* znaleziono mutację C295G w eksonie 1. Substytucja cytozyny w guaninę (C>G) prowadzi do zmiany kodonu ATC dla izoleucyny w kodon ATG dla metioniny. Po transkrypcji w mRNA jest to kodon AUG, który rozpoznawany jest przez rybosom, jako miejsce startu translacji. W wyniku analizy całej sekwencji genu *T* u różnych ras psów wykryto kilka polimorfizmów oraz unikalną mutację zmiany sensu u psów z ogonem typu bobtail i u ich krótkoogoniastego potomstwa. W kilka lat później Hytönen i wsp. (48) potwierdzili obecność mutacji genu *T* odpowiadającej za wystąpienie krótkiego lub szczątkowego ogona u 17 ras psów. Wykazali również, że nie u wszystkich psów, u których występuje krótkoogoniastość i bezogoniastość obecna jest mutacja genu *T*. Mutacja ta jest dziedziczona w sposób dominujący. Psy będące nosicielami mutacji poza skróconym ogonem nie wykazują żadnych innych wad (49). Z kolei homozygoty dominujące umierają we wczesnym okresie zarodkowym lub zaraz po urodzeniu (4, 48, 49). Homozygoty z atreją odbytu wykazywały wielu wad kręgosłupa, na przykład: skrócony odcinek szyjny, piersiowy i lędźwiowy, brak kręgów krzyżowych i ogonowych, skolioza odcinka piersiowego i lędźwiowego, kifoza odcinka piersiowego (49).

Gen *Manx* (M) u kota

Bezogoniastość i krótkoogoniastość typu Manx u kotów powstała w wyniku mutacji wśród kotów domowych na Wyspie Man. Pierwsze wzmianki na ten temat pochodzą z 1835 r. (50). Wykazano, że bezogoniastość typu Manx jest spowodowana obecnością autosomalnego dominującego allelu z pełną penetracją i zmiennym stopniem ekspresji, który jest letalny w układzie homozygotycznym (50). Początkowo letalność genu *M* ustalono w wyniku analizy statystycznej. Dopiero później zidentyfikowano martwe płody. Stwierdzono, że około piątego tygodnia ciąży płody były niewielkich rozmiarów i wykazywały szereg wad rozwojowych ośrodkowego układu nerwowego (51). Jednak bezogoniastość u heterozygotycznych kotów jest zaledwie jedną cechą z zespołu wad wywołanych obecnością allelu M (51, 52).

Koty Manx nie zawsze wykazują całkowity brak ogona. Stwierdzono

występowanie czterech typów kotów Manx w zależności od liczby kręgów ogonowych:

- rumpy, który nie ma żadnych kręgów ogonowych;
- rumpy-riser, mający 1–7 nieruchomych kręgów ogonowych;
- stumpy, mający 2–14 ruchomych kręgów ogonowych, ogon ma nieprawidłowy wygląd, jest załamany;
- longie, ogon jest skrócony, ale ma prawidłowy wygląd (52).

Wiele kotów Manx, poza skróconym ogonem, nie wykazuje innych nieprawidłowości. Jednak hodowca musi się liczyć z pojawieniem się w miocie kota Manx znacznego udziału kociąt cierpiących na wrodzone wady pierwotnie związane z nieprawidłową budową rdzenia kręgowego (52).

Znacząca większość wad występująca u kotów Manx dotyczy typu rumpy Manx. Do wad tych zalicza się między innymi: niedowład kończyn tylnych, chód polegający na podskakiwaniu, rozszerzenie okężnicy, nietrzymanie moczu i kału, zanik czucia w obszarze krocza (52).

Badania prowadzone na kotach Manx wykazały, iż zwierzęta z takimi problemami, jak: rozszczep kręgosłupa tylny, nietrzymanie kału i moczu, zanik czucia w obszarze krocza i nieprawidłowa aktywność kończyn tylnych miały nieprawidłową budowę rdzenia kręgowego. W tych przypadkach rdzeń kręgowy był skrócony, co wiąże się z brakiem pewnych nerwów rdzeniowych z odcinka krzyżowego rdzenia, które unerwiają okężnicę, pęcherz moczowy, kończyny tylne oraz obszar krocza (52).

Wydaje się, że nieprawidłowy chód, nietrzymanie moczu i kału czy brak czucia w obszarze krocza mogą być wywołane przez działanie genu zaangażowanego w rozwój cewy nerwowej (52).

Brak części rdzenia kręgowego u kotów Manx jest znaczący dla genezy bezogoniastości. Wykazano, że cewa nerwowa wraz ze struną grzbietową są zaangażowane w morfogenezę wywodzącej się z somitów chrząstki kręgowej w zarodku kury *in vivo* i *in vitro* (52). Stąd można założyć, że zasadnicza wada rozwojowa ośrodkowego układu nerwowego może doprowadzić do nieprawidłowego rozwoju ogonowego odcinka kręgosłupa u kotów Manx. Ta wada może pociągać za sobą częściowy brak wytwarzania lub wadliwy rozwój cewy nerwowej, a to z kolei może negatywnie wpływać na procesy wczesnej chondrogeny (52). U homozygotycznych zarodków wady rozwojowe dotyczą cewy nerwowej na całej jej długości. Z kolei heterozygotyczne pod względem genu Manx koty wykazują wady w rozwoju części ogony cewy nerwowej oraz kręgów ogonowych (52).

Zhigachev i Vladimirova (53) badali bezogoniastość w izolowanej populacji

kotów Baikuzino z regionu Rosji Udmurtia. Analiza genetyczna wykazała, że cecha ta może być kontrolowana przez dominujący gen z efektem letalnym we wczesnym stadium rozwoju zarodkowego. Mutacja ta powstała niezależnie od mutacji u kotów Manx. Autorzy sugerują, aby nazwać zmutowany allel *Bai* (53).

Gen *Tu* człowieka

W 1996 r. Edwards i wsp. (16) sklonowali gen kodujący czynnik transkrypcyjny *T* człowieka. Okazało się, że jest on homologiczny do genu *T* (*Brachyury*) myszy. Gen *T* u człowieka składa się z 8 eksonów i mierzy 10 kbp. Znajduje się w chromosomie 6q27 i koduje białko zbudowane z 436 aminokwasów, które jest w 91% identyczne z białkiem *T* u myszy.

Analiza RT-PCR genu *T* pokazała, że podczas rozwoju zarodkowego człowieka ekspresja genu jest ograniczona do jąder komórkowych tkanki tworzącej krążki międzykręgosłupowe. Wynik analizy świadczy o tym, że struna grzbietowa jest istotnym miejscem ekspresji genu *T* u człowieka, podobnie jak ma to miejsce u myszy i innych kręgowców (16).

Niektóre badania wskazują na powiązanie polimorfizmu pojedynczego nukleotydu w intronie siódmym genu *T* (TIVS7 T/C) z ryzykiem wystąpienia rozszczepu tylnego odcinka kręgosłupa (54, 55). Jednak inni badacze nie potwierdzają takiego związku. Tylny rozszczep kręgosłupa, który wiąże się między innymi z porażeniem kończyn dolnych, wynika z wad w rozwoju części ogonowej cewki nerwowej (48).

Ogólnie przyjmuje się, że 50–70% przypadków wad cewy nerwowej (neural tube defects – NTDs) jest zależnych od suplementacji kwasu foliowego przez kobietę w okresie okołozapłodnieniowym. Oznacza to, że dodatkowe procesy rozwojowe oraz inne geny także biorą udział w powstawaniu tego rodzaju wad (54).

Papapetrou i wsp. (56) podejrzewali, iż gen *T* u człowieka jest odpowiedzialny za występowanie takiej wady, jak brak wytworzenia kości krzyżowej z atrezią odbytnicy i odbytu. Gen *T* został wzięty pod uwagę, jako gen kandydujący, ponieważ wady ogona związane z mutacją genu *T* u myszy przypominają wady kręgosłupa stwierdzone u ludzi (50).

Z kolei Ghebranious i wsp. (57) badali związek mutacji c.1013C>T w genie *T* z występowaniem wrodzonych wad rozwojowych kręgosłupa (congenital vertebral malformations – CVM). Stwierdzili oni, że mutacja c.1013C>T zwiększa ryzyko wystąpienia CVM, ale nie jest wystarczająca do wywołania CVM. Dlatego też muszą istnieć dodatkowe dotychczas nieodkryte czynniki, które determinują rodzaj,

lokalizację i nasilenie przypadków wrodzonych wad rozwojowych kręgosłupa (57).

Przedstawione wyniki badań świadczą o tym, iż grupa genów z motywem *T* jest niezwykle ważna w procesie prawidłowego rozwoju zarodkowego. Mutacje w obrębie genów z motywem *T* prowadzą do poważnych wad rozwojowych tkanek i narządów wywodzących się z mezodermi tylnej części zarodka. Dlatego istotne jest dla zdrowia ludzi i zwierząt opracowanie odpowiednich testów, za pomocą których można identyfikować nosicieli odpowiednich mutacji bądź osobniki chore.

Pragniemy nadmienić, iż dzięki współpracy z członkami Klubu Welsh Corgi oddział w Lublinie Związku Kynologicznego w Polsce, autorkom artykułu udało się ustalić metodykę testu diagnostycznego, identyfikującą mutację C295G w genie *T* (58). W tym roku ukaże się artykuł, w którym opisany jest ten test (59).

Piśmiennictwo

- Herrmann B.G.: Expression pattern of the Brachyury gene in whole-mount T^{Wis}/T^{Wis} mutant embryos. *Development* 1991, **113**, 913-917.
- Papaioannou V.E., Silver, L.M.: The T-box gene family. *BioEssays* 1998, **20**, 9-19.
- Smith J.: T-box genes what they do and how they do it. *Trends Genet.* 1999, **15**, 154-158.
- Haworth K., Putt, W., Cattanch, B., Breen, M., Binns, M., Lingaas, F., Edwards, Y.H.: Canine homolog of the T-box transcription factor T; failure of the protein to bind to its DNA target leads to a short-tail phenotype. *Mamm. Genome* 2001, **12**, 212-218.
- Wilson V., Conlon, F.L.: The T-box family. *Genome Biol.* 2002, **3**, 3008.1-3003.7.
- Pflugfelder G.O., Roth, H., Poec, B.: A homology domain shared between Drosophila optomotor-blind and mouse Brachyury is involved in DNA binding. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1992, **186**, 918-925.
- Smith J.: Brachyury and the T-box genes. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1997, **7**, 474-480.
- Tada M., Smith, J.C.: T-targets: Clue to understanding the functions of T-box proteins. *Develop. Growth Differ.* 2001, **43**, 1-11.
- Kispert A., Koschorz, B., Herrmann, B.G.: The T protein encoded by *Brachyury* is a tissue-specific transcription factor. *EMBO J.* 1995, **14**, 4763-4772.
- Kispert A., Herrmann, B.G., Leptin, M., Reuter, R.: Homologs of the mouse *Brachyury* gene are involved in the specification of posterior terminal structures in *Drosophila*, *Tribolium*, *Locusta*. *Genes Dev.* 1994, **8**, 2137-2150.
- Schulte-Merker S., Ho, R.K., Herrmann, B.G., Nüsslein-Volhard, C.: The protein product of the zebrafish homologue of the mouse *T* gene is expressed in nuclei of the germ ring and the notochord of the early embryo. *Development* 1992, **116**, 1021-1032.
- Smith J.C., Price, B.M.J., Green, J.B.A., Weigel, D., Herrmann, B.G.: Expression of a Xenopus homolog of *Brachyury* (*T*) is an immediate-early response to mesoderm induction. *Cell* 1991, **67**, 79-87.
- Kispert A., Ortner, H., Cooke, J., Herrmann, B.G.: The chick *Brachyury* gene: developmental expression pattern and response to axial induction by localized activin. *Dev. Biol.* 1995, **168**, 406-415.
- Hue I., Renard, J.-P., Viebahn, C.: Brachyury is expressed in gastrulating bovine embryos well ahead of implantation. *Dev. Genes Evol.* 2001, **211**, 157-159.
- Viebahn C., Stortz, C., Mitchell, S.A., Blum, M.: Low proliferative and high migratory activity in the area of *Brachyury* expressing mesoderm progenitor cells in the gastrulating rabbit embryo. *Development* 2002, **129**, 2355-2365.
- Edwards Y.H., Putt, W., Lekoape, K.M., Stott, D., Fox, M., Hopkinson, D.A., Sowden, J.: The human homolog *T* of the mouse *T* (*Brachyury*) gene; gene structure, cDNA sequence, and assignment to chromosome 6q27. *Genome Res.* 1996, **6**, 226-233.

- Chapman D.L., Garvey, N., Hancock, S., Alexiou, M., Agulnik, S.I., Gibson-Brown, J.J., Cebra-Thomas, J., Bolag, R.J., Silver, L.M., Papaioannou, V.E.: Expression of the T-box family genes, *Tbx1-Tbx5*, during early mouse development. *Dev. Dyn.* 1996, **206**, 379-390.
- Conlon E.L., Fairclough, L., Price, B.M.J., Casey, E.S., Smith, J.C.: Determinants of T box protein specificity. *Development* 2001, **128**, 3749-3758.
- Müller C.W., Herrmann, B.G.: Crystallographic structure of the T domain-DNA complex of the *Brachyury* transcription factor. *Nature* 1997, **389**, 884-888.
- Demay E., Bilican, B., Rodriguez, M., Carreira, S., Pontecorvi, M., Ling, Y., Goding, C.R.: T-box factors: targeting to chromatin and interaction with the histone H3 N-terminal tail. *Pigment Cell Res.* 2007, **20**, 279-287.
- Casey E.S., O'Reilly, M.-A.J., Conlon, F.L., Smith, J.C.: The T-box transcription factor Brachyury regulates expression of *eFGF* through binding to a non-palindromic response element. *Development* 1998, **125**, 3887-3894.
- Tada M., Casey, E.S., Fairclough, L., Smith, J.C.: Bixl, a direct target of Xenopus T-box genes, causes formation of ventral mesoderm and endoderm. *Development* 1998, **125**, 3997-4006.
- Hurlin P.J., Steingrimsson, E., Copeland, N.G., Jenkins, N.A., Eisenman, R.N.: Mga, a dual-specificity transcription factor that interacts with Max and contains a T-domain DNA-binding motif. *EMBO J.* 1999, **18**, 7019-28.
- Laugier-Anfossi F., Villard, L.: Molecular characterization of a new human T-box gene (*TBX22*) located in Xq21.1 encoding a protein containing a truncated T-domain. *Gene* 2000, **255**, 289-296.
- Carreira S., Dexter, T.J., Yavuezer, U., Easty, D.J., Goding, C.R.: Brachyury-related transcription factor Tbx2 and repression of the melanocyte-specific TRP-1 promoter. *Mol. Cell. Biol.* 1998, **18**, 5099-5108.
- He M.-L., Wen, L., Campbell, C.E., Wu, J.Y., Rao, Y.: Transcription repression by *Xenopus* ET and its human ortholog TBX3, a gene involved in ulnar-mammary syndrome. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1999, **96**, 10212-10217.
- Carlson H., Ota, S., Campbell, C.E., Hurlin, P.J.: A dominant repression domain in Tbx3 mediates transcriptional repression and cell immortalization: relevance to mutations in Tbx3 that cause ulnar-mammary syndrome. *Hum. Mol. Genet.* 2001, **10**, 2403-2413.
- Gluecksohn-Schoenheimer S.: The development of two tailless mutants in the house mouse. *Genetics.* 1938, **23**, 573-584.
- Gluecksohn-Schoenheimer S.: The development of normal and homozygous brachy (T/T) mouse embryos in the extraembryonic coelom of the chick. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1944, **30**, 134-140.
- Wilson V., Rashbass, P., Beddington, R.S.: Chimeric analysis of T (*Brachyury*) gene function. *Development* 1993, **117**, 1321-31.
- Simon H.-G.: T-box genes and the formation of vertebrate forelimb- and hindlimb specific pattern. *Cell Tissue Res.* 1999, **296**, 57-66.
- Ryan A.K., Goodship, J.A., Wilson, D.L., Philip, N., Levy, A., Seidel, H., Schuffenhauer, S., Oechsler, H., Belohradsky, B., Prieur, M., Aurias, A., Raymond, F.L., Clayton-Smith, J., Hatchwell, E., McKeown, C., Beemer, F.A., Dallapiccola, B., Novelli, G., Hurst, J.A., Ignatius, J., Green, A.J., Winter, R.M., Brueton, L., Brøndum-Nielsen, K., Scambler, P.J.: Spectrum of clinical features associated with interstitial chromosome 22q11 deletions: a European collaborative study. *J. Med. Genet.* 1997, **34**, 798-804.
- Liu J., Lin, C., Gleiberman, A., Ohgi, K.A., Herman, T., Huang, H.P., Tsai, M.J., Rosenfeld, M.G.: Tbx19, a tissue-selective regulator of POMC gene expression. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 2001, **98**, 8674-8679.
- Pulichino A.M., Vallette-Kasic, S., Couture, C., Gauthier, Y., Brue, T., David, M., Malpuech, G., Deal, C., Van Vliet, G., De Vroede, M., Riepe, E.G., Partsch, C.J., Sippell, W.G., Berberoglu, M., Atasay, B., Drouin, J.: Human and mouse TPIT gene mutations cause early onset pituitary ACTH deficiency. *Genes Dev.* 2003, **17**, 711-716.
- Braybrook C., Doudney, K., Marcano, A.C.B., Arnason, A., Bjornsson, A., Patton, M.A., Goodfellow, P.J., Moore, G.E., Stanier, P.: The T-box transcription factor gene *TBX22* is mutated in X-linked cleft palate and ankyloglossia. *Nat. Genet.* 2001, **29**, 179-183.
- Showell C., Binder, O., Conlon, F.L.: T-box genes in early embryogenesis. *Dev. Dyn.* 2004, **229**, 201-218.
- Kavka A.L., Green, J.B.A.: Tales of tails: *Brachyury* and the T-box genes. *Biochim. Biophys. Acta* 1997, **1333**, F73-F84.
- Beddington R.S.: An autoradiographic analysis of tissue potency in different regions of the embryonic ectoderm during gastrulation in the mouse. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 1982, **69**, 265-285.

39. Hashimoto K., Fujimoto, H., Nakatsuji, N.: An ECM substratum allows mouse mesodermal cells isolated from the primitive streak to exhibit motility similar to that inside the embryo and reveals a deficiency in the T/T mutant cells. *Development* 1987, **100**, 587-98.
40. Wilson V., Manson, L., Skarnes, W.C., Beddington, R.S.: The T gene is necessary for normal mesodermal morphogenetic cell movements during gastrulation. *Development* 1995, **121**, 877-886.
41. Wilson V., Beddington, R.: Expression of T protein in the primitive streak is necessary and sufficient for posterior mesoderm movement and somite differentiation. *Dev. Biol.* 1997, **192**, 45-58.
42. Conlon F.L., Smith, J.C.: Interference with brachyury function inhibits convergent extension, causes apoptosis, and reveals separate requirements in the FGF and activin signalling pathways. *Dev. Biol.* 1999, **213**, 85-100.
43. Yanagisawa K.O.: Does the T gene determine the antero-posterior axis of a mouse embryo? *Jpn J. Genet.* 1990, **65**, 287-297.
44. Saka Y., Tada, M., Smith, J.C.: A screen for targets of the *Xenopus* T-box gene *Xbra*. *Mech. Dev.* 2000, **93**, 27-39.
45. Schulte-Merker S., Eeden, van F.J.M., Halpern, M.E., Kimmel, C.B., Nüsslein-Volhard, C.: *no tail (ntl)* is the zebrafish homologue of the mouse *T (Brachyury)* gene. *Development* 1994, **120**, 1009-1015.
46. Glickman N.S., Kimmel, C.B., Jones, M.A., Adams, R.J.: Shaping the zebrafish notochord. *Development* 2003, **130**, 873-887.
47. Kispert A., Herrmann, B.G.: The Brachyury gene encodes a novel DNA binding protein. *EMBO J.* 1993, **12**, 3211-3220.
48. Hytönen M.K., Grall, A., Hédan, B., Dréano, S., Seguin, S.J., Delattre, D., Thomas, A., Galibert F., Paulin, L., Lohi, H., Sainio, K., André, C.: Ancestral T-box mutation is present in many, but not all, short-tailed dog breeds. *J. Hered.* 2009, **100**, 236-240.
49. Indrebø A., Langeland, M., Juul, H.M., Skogmo, H.K., Rengmark, A.H., Lingaas, F.: A study of inherited short tail and taillessness in pembroke Welsh corgi. *J. Small Anim. Pract.* 2008, **49**, 220-224.
50. Adalsteinsson S.: Establishment of equilibrium for the dominant lethal gene for Manx taillessness in cats. *Theor. App. Genet.* 1980, **58**, 49-53.
51. Robinson R.: Expressivity of the Manx gene in cats. *J. Hered.* 1993, **84**, 170-172.
52. Deforest M.E., Basrur, P.K.: Malformations and the Manx syndrome in cats. *The Can. Vet. J.* 1979, **20**, 304-314.
53. Zhigachev A.I., Vladimirova, M.V.: Analysis of the inheritance of taillessness in the Baikuzino population of cats from Udmurtia. *Genetika* 2002, **38**, 1051-1053.
54. Jensen L.E., Barbaux, S., Hoess, K., Fraterman, S., Whitehead, A.S., Mitchell, L.E.: The human *T* locus and spina bifida risk. *Hum. Genet.* 2004, **115**, 475-482.
55. Morrison K., Papapetrou, C., Attwood, J., Hol, F., Lynch, S.A., Sampath, A., Hamel, B., Burn, J., Sowden, J., Stott, D.: Mariman, E., Edwards, Y.H. Genetic mapping of the human homologue (*T*) of mouse *T (Brachyury)* and a search for allele association between human *T* and spina bifida. *Hum. Mol. Genet.* 1996, **5**, 669-674.
56. Papapetrou C., Drummond, F., Reardon, W., Winter, R., Spitz, L., Edwards, Y.H.: A genetic study of the human *T* gene and its exclusion as a major candidate gene for sacral agenesis with anorectal atresia. *J. Med. Genet.* 1999, **36**, 208-213.
57. Ghebranious N., Blank, R.D., Raggio, C.L., Staubli, J., McPherrson, E., Ivacic, L., Rasmussen, K., Jacobsen, F.S., Faciszewski, T., Burmester, J.K., Pauli, R.M., Boachie-Adjei, O., Glurich, I., Giampietro, P.F.: A Missens *T(Brachyury)* mutation contributes to vertebral malformations. *J. Bone Miner. Res.* 2008, **23**, 1576-1583.
58. Gruszczynska J., Czapla A: Diagnostyka molekularna mutacji w genie T-box u psów rasy pembroke welsh corgi. *III Polski Kongres Genetyki, Lublin 12-15 września 2010 r. Materiały Konferencyjne* 2010, 141.
59. Gruszczynska J., Czapla A: A molecular test for the detection of the C295G mutation in the T gene responsible for shortened tail and taillessness in the Pembroke Welsh Corgi. *Annals of Warsaw University of Life Sciences-SGGW- Animal Science* 2011, w druku.

Mgr Agata Czapla, Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt, Wydział Nauk o Zwierzętach SGGW, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa