

Achievements and prospects of molecular biology in veterinary and medicine

Gliński Z., Kostro K., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

The purpose of this article was to review prospects of molecular biology methods in veterinary and medicine. The studying of biochemical and biophysical aspects of structure and function of genes and other sub-cellular entities, provided new insight into their role in health and disease. Molecular biology in XXI century has been involved in research and practice of medicine, biology, pharmacology, agriculture, food technology and military service. Understanding the structure and function of human genome enables improve diagnostic approach, develop of new, highly targeted therapeutics and vaccines and construct new bio-weapons. Unique DNA sequences provide high levels of specificity for the diagnostic purposes and identification of viruses, microbes and parasites species and strains. The polymerase chain reaction (PCR) and related methods are particularly important for identification pathogenic organisms. Molecular genetics with chemistry is used in the search for new drugs and improvement of already existing chemotherapeutics. Veterinary technologies based on modern biotechnology offer enormous potential for the production of vaccines, other medicinal products and help monitor diseases.

Keywords: genome, genetic markers, biological weapons, molecular biology methods.

Biologia molekularna, która zajmuje się podstawami działania organizmów żywych na poziomie subkomórkowym od połowy XX w. i na początku XXI w. zdominowała nauki biologiczne (1). Jej osiągnięcia na polu nauk stosowanych, zwłaszcza genetyki, wielu działów biologii, medycyny

Osiągnięcia i perspektywy biologii molekularnej w weterynarii i medycynie

Zdzisław Gliński, Krzysztof Kostro

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

i weterynarii są ogromne i nadal prowadzą do odkrywania nowych praw i zależności obowiązujących w świecie organizmów żywych (2). Należy tylko wspomnieć, że dzięki biologii molekularnej udało się między innymi określić genom człowieka i wielu gatunków zwierząt oraz roślin, usprawnić diagnostykę i poznać patogenę chorób tła genetycznego, zdiagnozować pierwotne i wtórne zespoły upośledzonej odporności, stworzyć racjonalne podstawy immunologii i immunoterapii chorób nowotworowych oraz immunologii transplantacyjnej (3, 4). Podstawy genomiki i proteomiki zostały utworzone dzięki badaniom na poziomie subkomórkowym i komórkowym z wykorzystaniem nowych, subtelnych technik biologii molekularnej (techniki klonowania, reakcja łańcuchowa polimerazy – PCR, najrozmaitszych odmian elektroforezy żelowej, blotting DNA (Southern, Western, Northern). Poznanie procesów replikacji, transkrypcji i translacji umożliwiło ich praktyczne wykorzystanie w naukach biologicznych, takich jak bioinformatyka, biomedycyna, enzymologia molekularna, ewolucjonizm (5, 6, 7) i biotechnologia (8).

Omawiając w zarysie osiągnięcia i perspektywy biologii molekularnej w weterynarii i medycynie ograniczamy się

wyłącznie do kilku problemów o znaczeniu kluczowym dla tych dziedzin nauki, a mianowicie do: określenia genomu człowieka, poszukiwanie markerów genetycznych odpowiedzialnych za podatność na zakażenia, konstruowanie nowych patogenów w celu ich ewentualnego wykorzystania jako broni biologicznej i technik biologii molekularnej w rozpoznawaniu chorób.

Biologia molekularna często na skutek nazewnictwa specyficznego dla tej dziedziny wiedzy, skomplikowanych technik badawczych, silnemu powiązaniu z wieloma naukami szczegółowymi, zwłaszcza z biologią i biochemią, wydaje się nauką „tajemną” dla specjalistów z innych dziedzin wiedzy. Przedstawiony artykuł może w pewnym stopniu przybliżyć lekarzom weterynarii wybrane osiągnięcia i perspektywy, jakie rysują się przed biologią molekularną, będącą najbardziej dynamicznie rozwijającą się dziedziną wiedzy w XXI w.

Genom człowieka

Projekt gnomiczny zakładał dokonanie szczegółowych analiz sekwencji nukleotydów oraz zdefiniowanie występujących w nich informacji genetycznych (9). Badania nad określeniem genomu człowieka trwały

13 lat i zakończyły się sukcesem. Odczytano kompletną sekwencję nukleotydów genomu człowieka. Można je uznać za jeden z najambitniejszych projektów badawczych realizowanych dotychczas przy współpracy naukowców z wielu krajów. Mapowanie materiału genetycznego umożliwiło nie tylko poznanie tajemnic dziedziczenia i funkcjonowania człowieka na poziomie subkomórkowym, ale także na wykorzystanie uzyskanych informacji w wielu dziedzinach biologii, medycyny, farmacji i nauk rolniczych. Realizacja programu pozwoliła na identyfikację wszystkich genów w DNA człowieka z równoczesnym określeniem sekwencji par zasad w helisie DNA i stworzenie bazy danych oraz opracowanie sposobów przechowywania danych (10, 11). Poznanie genomu stanowi podstawę medycyny molekularnej, nowej gałęzi wiedzy, która przez wykorzystanie manipulacji materiałem genetycznym usprawniła diagnostykę oraz umożliwiła terapię genową i leczenie chorób o podłożu genetycznym (12, 13).

Dotychczasowe osiągnięcia medycyny molekularnej są ogromne, a dalsze perspektywy wykorzystania technik molekularnych wydają się nieograniczone. Już dzisiaj można w skrócie przedstawić pole działania i efekty, a także problemy etyczne i ograniczenia tej dziedziny wiedzy. Do najważniejszych można zaliczyć ustalenie przyczyn chorób genetycznych i ich patogenezę, poznanie zmian na poziomie genomu, transkryptomu, proteomu i ich konsekwencje, terapię genową, takich chorób, jak: mukowiscydoza, fenylketonuria, niektórych typów nowotworów, genotypowanie wykorzystywane w medycynie sądowej i kryminalistyce, modelowanie układów biologicznych, zastosowanie technik mikromacierzy oraz konstruowanie nowych efektywnych leków (14). Biologia ewolucyjna odnosi ogromne korzyści z porównania genomu różnych istot żywych. Opracowano i wykorzystano też genom tzw. organizmów modelowych, takich jak: *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*, *Mus musculus*, dzięki czemu można selektywnie oddziaływać w warunkach eksperymentu nawet na poszczególne geny (15, 16, 17). Odczytanie sekwencji nukleotydów genomu *Haemophilus influenzae* w 1995 r. zapoczątkowało erę genomiki bakterii (18).

Ostatnio okazało się, że większość zmian związanych z chorobami dotyczy nie samych genów, ale ich regulacji i że są one związane z obszarami DNA, które decydują o czasie i miejscu włączenia lub wyłączenia genów regulatorowych. W DNA człowieka znajduje się ponad 4 mln miejsc regulatorowych. Zmiany w DNA związane z pewnymi chorobami mają tendencje do grupowego występowania, również w miejscach regulacyjnych dla układu odpornościowego (19).

Markery podatności na zakażenie i choroby

Wśród czynników odpowiedzialnych za podatność na choroby podstawową rolę odgrywają czynniki endogenne związane z ekspresją genów zwiększających ryzyko na zachorowanie. Od kilkunastu lat stała się możliwa identyfikacja zmian w niektórych genach, które wpływają na podatność organizmu na daną chorobę, a także na tempo jej rozwoju. Te zmiany są efektem genetycznej zmienności osobniczej związanej z polimorfizmem pojedynczego nukleotydu (20, 21) lub zmienności liczby kopii genu (copy number variation – CNV). Polega ona na nabyciu lub utracie odcinków DNA złożonych z około 1000 par zasad. Najwięcej danych na temat markerów podatności na choroby przyniosły badania genów „kandydujących”, które dotyczą poszukiwania mutacji lub wariantów polimorficznych oraz analizy funkcjonalnej produktów białkowych tych genów (22, 23). Najczęściej to zestawy genów warunkują różnego rodzaju zaburzenia funkcjonalne, które prowadzą do rozwoju choroby (14). Niekiedy przyczyną jest brak jednego genu, co ma np. miejsce w toczniu układowym u człowieka, w którym u ponad 50% pacjentów choroba jest efektem braku genu odpowiedzialnego za ekspresję składników C1q i C4 dopełniacza. Badania ekspresji genów umożliwiły np. identyfikację ekspresji genów związanych z niskim zapłodnieniem wśród dawców nasienia z prawidłową jakością spermy. Genetyczny finger print jest czułym markerem niskiej zdolności zapładniania. Zidentyfikowano zestaw genów odpowiedzialnych za osobniczą skłonność do atopii. Na przykład w regionie 11q13 znajdują się geny kodujące domenę receptora uczestniczące w przekazywaniu sygnału aktywującego komórkę, po związaniu przeciwciała IgE połączonego z alergenem (24, 25).

Duży postęp przyniosły badania związków pomiędzy zróżnicowaną podatnością na patogeny i genami głównego układu zgodności tkankowej (HLA). Białka HLA klasy I i II odgrywają kluczowe znaczenie w odpowiedzi immunologicznej na zakażenie. Duże zróżnicowanie alleli genów kodujących te białka wpływa na swoistość serologiczną. Na przykład w przypadku malarii potwierdzono po raz pierwszy rolę tła genetycznego na podatność i przebieg zakażenia. Nosiciele allele *HbS* (wariant genu z mutacją) są odporni na ostrą i letalną postać malarii wywołaną przez *Plasmodium falciparum* (26). Poznano też geny, które modulują wrażliwość na malarię, a także prowadzono badania nad genomiką trzęsawki owiec (27). Poznano rolę zmienności w genie CFTR a występowaniem choroby u człowieka, wyjaśniono genetyczne

podłoże trądu. Regulacji genetycznej podlega podatność na zakażenie i modulacja przebiegu choroby. Zidentyfikowano warianty genów HLA wpływające na podatność na zakażenie HIV i tempo rozwoju choroby (28, 29), a także ustalono, jakie zmiany w sekwencjach genów kodujących cytokiny korelują z zakażeniem HIV. Doniosłe znaczenie dla onkologii ma poznanie białka CAGA *Helicobacter pylori* i wykazanie jego roli jako onkoproteiny. To białko o masie 120-145 kDA, silnie immunogenne, jest kodowane przez gen *cagA* znajdujący się w obrębie wyspy patogenności *cagPAL* (30). Oddziałując z białkami gospodarza, powoduje ono rozwój metaplastji, dysplastji i w końcu rozwój nowotworu tkanki nabłonkowej żołądka (31). Dzięki infektogenomice (21), która bada interakcje pomiędzy organizmem gospodarza a patogenem, stało się możliwe opracowanie nowych generacji leków i metod postępowania leczniczego, usprawnienie prognozowania, a także monitorowanie terapii wielu chorób.

Preimplantacyjna diagnostyka genetyczna umożliwia wykrycie wad genetycznych w komórce jajowej lub rozwijającym się zarodku i przeniesienia chorób genetycznych na dziecko jeszcze przez zająście kobiety w ciąży. Pozwała ona na wykrycie chorób jednogennowych (mukowiscydoza, dystrofia mięśni, choroba Huntingtona) oraz chorób związanych z nieprawidłową liczbą chromosomów, np. zespołu Downa (32, 33, 34, 35).

Zastosowanie technik biologii molekularnej

Techniki biologii molekularnej znajdują coraz powszechniejsze zastosowanie w rutynowej diagnostyce mikrobiologicznej, diagnostyce chorób genowych, terapii genowej, transplantologii (36), w farmakologii w próbach wyjaśnienia oporności na antybiotyki (37) oraz identyfikacji drobnoustrojów.

Molekularna medycyna weterynaryjna stała się jedną z ważnych dziedzin nauki i praktyki. Notuje ona poważne osiągnięcia w dziedzinie immunologii i immunopatologii weterynaryjnej, diagnostyce chorób zakaźnych i reprodukcji zwierząt (38). Wypracowane techniki biologii molekularnej i osiągnięcia genomiki, proteomiki i bioinformatyki już zaczynają być wykorzystywane, chociaż w mniejszym zakresie aniżeli w medycynie, w diagnostyce chorób zakaźnych, ustalaniu przyczyn podatności na choroby (39, 40), nanotechnologiach i terapii genowej zwierząt (41), wakcynologii (42). Nowe strategie produkcji szczepionek, z użyciem wirusów jako wektorów genów kodujących immunogeny patogenów (np. wirusa wścieklizny lub kieszonkoszu), oparte są o osiągnięcia biologii molekularnej, które też w coraz większym zakresie są wykorzystywane w epidemiologii weterynaryjnej,

w wyjaśnianiu mechanizmów patogenezы i odpowiedzi immunologicznej w chorobach zwierząt (43, 44, 45, 46, 47).

W klasyfikacji drobnoustrojów bowiem, oprócz metod fenotypowych, stosowane jest genotypowanie oparte na analizie materiału genetycznego. Taksonomia mikroorganizmów uwzględnia wspólnie ewolucyjne dziedzictwo w oparciu o sekwencje nukleotydów w 16S bakteryjnego rybosomalnego RNA (rRNA). Produktami ekspresji genów odpowiedzialne za kodowanie poszczególnych rodzajów rRNA jest 16 SrRNA, 23 SrRNA i 55 SrRNA oraz tRNA. Opracowano sondy molekularne DNA do wykrywania bakteryjnego i wirusowego materiału genetycznego w materiale patologicznym i do diagnostyki parazytologicznej (39). Łańcuchowa reakcja polimerazy (48, 49) jest obecnie podstawowym narzędziem pracy biologów molekularnych, ponieważ pozwala na powielenie specyficznych fragmentów DNA. Powielony fragment DNA może zostać poddany dalszej analizie restrykcyjnej, hybrydacyjnej lub być bezpośrednio sekwencjonowany. Metoda łańcuchowej lizy, będąca jedną z odmian PCR stosowana jest w diagnostyce, głównie w identyfikacji drobnoustrojów. RT-PCR (reakcja łańcuchowa polimerazy z odwrotną transkrypcją) umożliwiła analizę jakościową i ilościową ekspresji genów na poziomie mRNA. Stosuje się ją do wykrywania materiału genetycznego, np. w rozpoznawaniu gruźlicy bydła i człowieka. PCR wykorzystuje się do wykrywania DNA *Mycobacterium bovis* i *M. tuberculosis*. Amplifikuje się fragment genu białka szoku termicznego lub fragment sekwencji IS 986, IS 1081. Wirus enzootycznej białaczki bydła można wykryć testem PCR lub metodą hybrydacji, używając sondy genetycznej. Do badań w kierunku enterotoksyn często wykorzystuje się metody oparte na PCR lub hybrydacji materiału genetycznego badanych bakterii ze znakowanymi sondami DNA. PCR jest wykorzystywane do szybkiego wykrywania w tkankach wirusa zapalenia tętnic koni, typowania wirusów grypy i diagnostyce wścieklizny.

Genotypowanie umożliwia też wykrycie powiązań filogenetycznych i genów lekooporności. W tym celu wykorzystuje się reakcję łańcuchowej polimerazy i jej modyfikacje (np. RT-PCR, multipleks PCR, techniki elektroforetyczne; 50). Amplifikacji molekularnej można poddać: polimorficzny region pomiędzy genami kodującymi podjednostki rybosomalne rRNA, zmienny region wewnątrz genu kodującego 16S rRNA, region z genami kodującymi 16S rRNA i 23 S rRNA, polimorficzne fragmenty pomiędzy tymi regionami, region kodujący tRNA lub całą sekwencję genu kodującego 16S rRNA (51). Elektroforeza w zmiennym polu elektrycznym w genotypowaniu wielu gatunków bakterii jest uznawana za

„złoty standard”. Dużym osiągnięciem jest typowanie RAPD (random amplified polymorphic DNA) i metoda MLST (multilocus sequence typing) polegająca na analizie fragmentów kilku wybranych genów ważnych dla metabolizmu, szczególnie bakterii (52). Przykładem zastosowania metod techniki biologii molekularnej jest np. identyfikacja bakterii z rodzaju *Vibrio* (53, 54).

Metody typowania genetycznego takie jak metoda hybrydacji (dot blot, reverse dot blot), analiza polimorfizmu miejsc restrykcyjnych produktu łańcuchowej polimerazy (PCR-RFLP), swoista w stosunku do sekwencji reakcja PCR (PCR-SSP), sekwencjonowanie DNA znajdują coraz powszechniejsze zastosowanie nie tylko w badaniach naukowych, ale jako wysoce czułe i specyficzne są przydatne w typowaniu HLA. Jest ono istotne w transplantologii, ponieważ zgodność HLA pomiędzy dawcą a biorcą zmniejsza ryzyko odrzucenia przeszczepu oraz w diagnostyce chorób wykazujących powiązanie z HLA (55, 56).

Broń biologiczna

Postęp nauki jest wykorzystywany nie tylko w celach, które przyczyniają się do rozwoju społeczeństwa, jego zdrowia i dobrobytu. Może też służyć do produkcji broni użytej do podbojów albo siania terroru. Pomimo istniejącego zakazu produkowania i stosowania broni biologicznej, istnieją tajne laboratoria i programy ewentualnego jej użycia, szczególnie do siania terroru. Możliwość konstruowania broni, przeciwko której istniejące zabezpieczenia są nieskuteczne, jest ogromna dzięki osiągnięciom biologii molekularnej. Gama możliwych rozwiązań obejmuje produkcję bakterii patogennych dla człowieka i zwierząt opornych na znane chemioterapeutyki, drobnoustrojów patogennych o zmienionej na drodze manipulacji genetycznej strukturze antygenowej, tak że dotychczas znane szczepionki i surowice odpornościowe będą zupełnie nieskuteczne lub produkcję zmodyfikowanych lub całkowicie nowych, bo niewystępujących w przyrodzie, toksyn grzybiczych działających przez przewód pokarmowy, układ oddechowy i drogą naskórną (57). Mogą one zostać użyte w samosterujących bombach biotechnologicznych, ukierunkowanych na unicestwienie ściśle określonych celów, np. pewnych ras ludzi lub gatunków zwierząt, dzięki posiadaniu przez nie określonych uprzednio skonstruowanych i wbudowanych sekwencji helisy DNA, a stąd i receptorów dla określonych składników organizmów docelowego działania. Możliwe jest w tym celu przemodelowanie genu znanego drobnoustrojów chorobotwórczych wywołujących węglik, dżumę, cholera, wirusów grypy lub gorączek krwotocznych, na co wskazują już zakończone

badania. Przez wprowadzenie do genomu wirusa ospy myszy tylko jednego genu, jakim jest gen interleukiny-4 (IL-4), udało się zablokować odpowiedź immunologiczną myszy na zakażenie. Tym samym banalne infekcje wywołane przez drobnoustroje oportunistyczne przybierają charakter śmiertelnych zakażeń. W 1997 r. uzyskano w Rosji laseczki węglika z dodatkowym genem, tak zmodyfikowane, że przed zakażeniem nie chronią dotychczas znane szczepionki. Znana jest krzyżówka wirusa ospy z wirusem Ebola (Ebolapox). Ten zarazek łączy w sobie ogromną zaraźliwość z dużą śmiertelnością. Zmodyfikowana genetycznie pałeczka okrężnicy nabyła właściwości produkowania toksyny węglikowej w jelitach zakażonych zwierząt (58). Konstrukcja drobnoustrojów, które są zdolne do całkowitego zniszczenia neuronów lub dezorganizacji obrony immunologicznej zakażonego organizmu, nie pozostaje w sferze urojeń pewnych ludzi. Wydaje się wielce prawdopodobne wykorzystywanie drobnoustrojów z rodzaju *Acinetobacter* do destrukcji komórek układu nerwowego lub wyselekcjonowanych komórek układu immunologicznego. Manipulacje genetyczne na poziomie molekularnym umożliwiają też zmianę lub rozszerzenie widma zakażonego znanych patogenów, zmniejszenie ich wrażliwości na niekorzystny wpływ środowiska i środków odkażających, a także przystosowanie do przenoszenia lub nawet rozmnażania się w nowych wektorach biologicznych (59).

Podsumowanie

Omówienie wielu problemów, które nadal odgrywają istotną rolę w biologii molekularnej przekracza ramy tego krótkiego artykułu. Osobnego potraktowania wymaga bowiem terapia genu polegająca na korygowaniu wadliwych genów odpowiedzialnych za rozwój choroby, molekularna diagnostyka nowotworzenia, opracowanie nowych szczepionek i nowych programów zwalczania chorób zakaźnych zwierząt i człowieka (60), a z technik biologii molekularnej cytometria przepływowa oraz genetyczne układy scalone (DNA chips). Ponieważ pojedyncza macierz (chip) oligonukleotydowa może zawierać nawet kilkadziesiąt tysięcy nukleotydów, jest możliwa analiza ogromnej ilości genów jednocześnie. Istotny i wymagający szybkiego rozwiązania jest przy tym problem zakresu i oceny etycznej manipulacji genami człowieka i zwierząt oraz związane z manipulacjami genetycznymi problemy genetycznie zmodyfikowanej żywności (GMO). Pomimo trwających już kilkuletnich dyskusji, wydaje się konieczne ostateczne ustalenie norm międzynarodowego i krajowego postępowania o rzetelnych podstawach naukowych, a przy tym powszechnie akceptowanych.

Piśmiennictwo

- Akhtar A., Fuchs E., Mitchison T., Shaw R.J., St Johnston D., Strasser A., Taylor S., Walczak C., Zerial M.: A decade of molecular cell biology: achievements and challenges. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2011, **12**, 669-674.
- Sarkar A. (edit.): *Biology and History of Molecular Biology: New Perspectives*. Springer, 2001.
- Bell J.: Predicting disease using genomics. *Nature* 2004, **429**, 453-456.
- Bentley D.R.: Genomes for medicine. *Nature* 2004, **429**, 440-445.
- Astbury W.T.: Molecular biology or ultrastructural biology. *Nature* 1961, **190**, 1124.
- Davis R. H.: The age of model organisms. *Nature Reviews/Genetics* 2004, **5**, 69-77.
- Kellam P., Weiss R.A.: Infectogenomics: insights from the host genome into infectious diseases. *Cell* 2006, **124**, 695-697.
- Soetan K.O., Abatan M.O.: Biotechnology a key tool to breakthrough in medical and veterinary research. *Bio-techn. Mol. Biol. Rev.* 2008, **3**, 88-94.
- Clark A.G., Hubisz M.J., Bustamante C.D., Williamson S.H., Nielsen R.: Ascertainment bias in studies of human genome-wide polymorphism. *Genome Res.* 2005, **15**, 1496-1502.
- Barreiro L. B., Laval G., Quach H., Patin E., Quintana-Murci L.: Natural selection has driven population differentiation in modern humans. *Nature Genet.* 2008, **40**, 340-345.
- Li Y., Willer C., Sanna S., Abecasis G.: Genotype imputation. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2009, **10**, 387-406.
- Fay O., Tiribelli C.: Molecular medicine: the present and the future. *Int. J. Mol. Biol.* 2000, **5**, 301-305.
- Nosikov V.V., Seregin Yu. A.: Molecular genetics of type 1 diabetes mellitus: achievements and future trends. *Mol. Biol.* 2008, **42**, 773-783.
- Strunk T., Burgner D.: Genetic susceptibility to neonatal infection. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2006, **19**, 259-263.
- Annas G.J.: Mapping the human genome and the meaning of monster mythology. *Emory Law J.* 1990, **39**, 629-664.
- Smith K. C.: The new problem of genetics: A response to Gifford. *Biology, Philosophy* 1992, **7**, 331-348.
- Davis R. H.: The Age of model organisms. *Nature Reviews/Genetics* 2004, **5**, 69-77.
- Dziewit L., Bartosik D.: Genomy prokariotyczne w świecie analiz genomicznych. *Post. Mikrobiol.* 2011, **50**, 87-96.
- Wertheim K., Kutkowska-Kaźmierczak A., Bal J.: Genetycznie uwarunkowana wrażliwość na wybrane choroby zakaźne człowieka. *Medycyna Wieku Rozwoj.* 2008, **3**, 738-747.
- Czerska K., Nawara M., Bal J.: Single nucleotide polymorphism in human genetic analyses. *Medycyna Wieku Rozwoj.* 2003, **7**, 531-546.
- Kellam P., Weiss R.A.: Infectogenomics: insights from the host genome into infectious diseases. *Cell* 2006, **124**, 695-697.
- Burgner D., Jamieson S.E., Blackwell J.M.: Genetic susceptibility to infectious diseases: big is beautiful, but will bigger be even better? *Lancet Infect. Dis.* 2006, **6**, 653-663.
- Clementi M., Di Gianantonio E.: Genetic susceptibility to infectious diseases. *Reprod. Toxicol.* 2006, **21**, 345-349.
- Heinzmann A., Deichmann K.A.: Genes for atopy and asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2001, **1**, 387-392.
- Malcolm N., Blumenthal M.D.: New thoughts regarding the genetics of atopy. *Amer J. Resp. Crit. Care Med.* 2004, **169**, 555-556.
- Cooke G.S., Hill A.V.: Genetic susceptibility of human infectious diseases. *Nat. Rev. Genet.* 2001, **2**, 967-977.
- Gonzalez L., Jeffrey M., Dagleish M.P., Goldmann W., Siso S., Eaton S.L., Martin S., Finlayson J., Stewart P., Steele P., Vang Y., Hamilton S., Reid H.W., Chianini F.: Susceptibility to scrapie and disease phenotype in sheep: cross-rPrnp genotype experimental transmissions with natural sources. *Vet. Res.* 2012, **43**, 55-61.
- Carrington M., Nelson G.W., Martin M.P.: HLA and HIV- heterozygote advantage and B35-Cw04 disadvantage. *Science* 1999, **283**, 1748-1752.
- Mira M.T.: Genetic host resistance and susceptibility to leprosy. *Microbes Infect.* 2006, **8**, 1124-1131.
- Tsutsumi R., Higashi H., Higuchi M., Okada M., Hatakeyama M.: Attenuation of Helicobacter pylori CagA SHP-2 signaling by interaction between Cag A and C-terminal Src kinase. *J. Biol. Chem.* 2003, **278**, 3664-3670.
- Kuklińska U., Łasica A.M., Jagustyn-Krynicka E.K.: Białko CagA Helicobacter pylori-pierwsza zidentyfikowana bakteryjna onkoproteina. *Post. Mikrobiol.* 2011, **50**, 97-106.
- Handyside A.H., Pattinson J.K., Penketh R.J., Delhanty J.D., Winston R.M., Tuddenham E.G.: Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. *Lancet* 1989, **8634**, 347-349.
- Handyside A.H., Delhanty J.D.A.: Preimplantation genetic diagnosis: strategies and surprises. *Trends in Genetics* 1997, **13**, 270-275.
- McArthur S., Leigh D., Marshall J., de Boer K., Jansen R.: Pregnancies and live births after trophoblast biopsy and preimplantation genetic testing of human blastocysts. *Fertility and Sterility* 2005, **84**, 1628-1636.
- Forman E.J., Hong K.H., Treff N.R., Scott R.T.: Comprehensive chromosome screening and embryo selection: moving toward single euploid blastocyst transfer. *Semin. Reprod. Med.* 2012, **30**, 236-242.
- Brown P.O., Botstein D.: Exploring the New World of the genome with DNA microarrays. *Nat. Genet.* 1999, **21**, 33-37.
- Chora L., Roberts M.: Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2001, **65**, 232-260.
- Borrotto C.G.: Biotechnology and its application to veterinary science. *Conf. OIE.* 2008, 231-240.
- Weiss J.B.: DNA probes and PCR for diagnosis of parasitic infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995, **8**, 113-130.
- Morina R., Knorr C., Haase B., Leeb T., Seuberlich T., Zurbiggen A., Brem G., Schutz E., Brenning B.: Molecular analysis of carbohydrate N-acetylgalactosamine 4-0 sulfotransferase 9 (CHST8) as a candidate gene for bovine spongiform encephalopathy susceptibility. *Animal Genetics* 2010, **41**, 85-88.
- Binns M.M.: The application of molecular biology to the study of veterinary infectious diseases. *Br. Vet. J.* 1993, **149**, 21-30.
- Shams H.: Recent developments in veterinary vaccinology. *Vet. J.* 2005, **170**, 289-299.
- Bostock C.J.: Viruses as vectors. *Vet. Microbiol.* 1990, **23**, 55-71.
- Prichard R.: Application of molecular biology to veterinary medicine. *Vet. Parasitol.* 1997, **71**, 155-178.
- Yamanouchi K., Barrett T., Kai C.: New approaches to the development of virus vaccines for veterinary use. *Res. Sci. Techn.* 1998, **17**, 641-653.
- Jabbar A., Iqbal Z., Muhammed G., Khan M.N., Abbas R.Z., Sandhu Z.U.D., Lateef M.: The interplay of molecular biology and veterinary parasitology: a need of the time. *Int. J. Agri. Biol.* 2005, **7**, 845-853.
- Achrea L.C., Kaplan R.M., Faustino M.A.G.: Molecular biology in veterinary medicine: concepts and application. *Med. Vet.* 2007, **1**, 71-80.
- Mulis J.B., Falcona P.A.: Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalysed chain reaction. *Methods Enzymol.* 1987, **155**, 335-350.
- Lunch J.R., Brown J.M.: The polymerase chain reaction: current and future clinical applications. *J. Med. Gen.* 1990, **27**, 2-7.
- Dutka-Malen S., Evers S., Courvalin P.: Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of the clinically relevant enterococci by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 1995, **33**, 24-27.
- Dolka B., Szeleszczuk P.: Zastosowanie technik molekularnych w diagnostyce zakażeń Enterococcus decorum u kur. *Zycie Wet.* 2012, **87**, 594-597.
- Konstantinidis K.T., Ramette A., Tiedje J.M.: The bacterial species definition in the genomic era. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2006, **361**, 1929-1940.
- Tarr C.L., Patel J.S., Puhar N.D., Sowers E.G., Bopp C.A., Strockbine N.A.: Identification of Vibrio isolates by a multiplex PCR assay and rpoB sequence determination. *J. Clin. Microbiol.* 2007, **45**, 134-140.
- Stanley C., Harwood V.J.: The use of genetic typing methods to discriminate among strains of Vibrio cholerae, V. parahaemolyticus, and V. vulnificus. *J. AOAC Int.* 2010, **93**, 1553-1569.
- Bon M.A.M., van Oeveren-Dybcz A., van der Berg F.A.-J.T.M.: Genotyping of HLA-B27 by Real-Time PCR without hybridization probes. *Biol. Chemistry* 2000, **7**, 1001-1002.
- Gyllenstein U., Allen M.: PCR-based HLA class II typing. *Genome Res.* 1991, **1**, 91-98. Salva K., Beksac M.: HLA typing with sequence-specific oligonucleotide primer PCR (PCR-SSO) and use of the luminex technology. *Methods Molec. Med.* 2007, **134**, 61-69.
- Mierzejewski J., Franz D. R., Zajchuk R.: Rodzaje patogenów, które mogą zostać użyte w ataku bioterrorystycznym. *Przegląd Epidemiol. Suppl.* 2. 2001, **55**, 159-167.
- Domaradskij I.V., Orent W.: Achievements of the Soviet biological weapons programme and implications for the future. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.* 2006, **25**, 153-161.
- Gliński Z.: Bioterroryzm. *Zycie Wet.* 2001, **76**, 592-595.
- Burgner D., Jamieson S.E., Blackwell J.M.: Genetic susceptibility to infectious diseases: big is beautiful, but will bigger be even better? *Lancet Infect Dis.* 2006, **6**, 653-663.

SPRAWDZONA LINIA PRZECIWBIEGUNKOWA DLA CIELĄT



PRODUKTY DOSTĘPNE U LEKARZY WETERYNARII

ELEKTROLITY

HYDRO-DIARSTOP koncentrat 500 ml

- ✓ można podawać z wodą lub mlekiem
- ✓ 1 opakowanie = 20 litrów roztworu



HYDRO-DIARSTOP 100 ml

- ✓ + betaina i glicyna
- ✓ ekonomiczny i łatwy w użyciu
- ✓ 50 ml na 1-2 litry wody



NATURALNE PREPARATY PRZECIWBIEGUNKOWE

DIAR-STOP

- ✓ sprawdzony preparat przeciwbiegunkowy
- ✓ opakowania 150 g, 1 kg (proszek)



DIAR-STOP PLUS

- ✓ + probiotyk i elektrolity
- ✓ opakowania 1 kg (proszek)



Prof. zw. dr hab. mgr Z. Gliński, Katedra Epizootologii i Kliniki Chorób Zakaźnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

ul. Magazynowa 1A, 07-417 Ostrotęka,
tel. +48 (29) 767 87 41; +48 (29) 760 56 60;
kom.: +48 603 999 268
www.jfarm.pl | e-mail: biuro@jfarm.pl

