

(145)

# Badania genu TIGR u pacjentów z pierwotną jaskrą otwartego kąta

## Study of TIGR gene in patients with primary open angle glaucoma

Maciej R. Krawczyński, Malwina Czarny-Ratajczak, Krystyna Pecold<sup>1</sup>, Anna Latos-Bieleńska

Z Katedry i Zakładu Genetyki Medycznej Akademii Medycznej w Poznaniu

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Anna Latos-Bieleńska

<sup>1</sup>Z Katedry i Kliniki Okulistyki Akademii Medycznej w Poznaniu

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Krystyna Pecold

**Summary:** Purpose: The aim of the study was to identify the mutations of TIGR gene in Polish patients with primary open angle glaucoma (POAG), and to define the genotype-phenotype correlation, between the type of mutation and the clinical picture of POAG.

Material and methods: The study included 45 patients with verified and proved diagnosis of POAG. DNA was isolated from peripheral blood lymphocytes of patients. The PCR amplification of all three exons of TIGR gene was done for every patient. The screening for the sequence changes in the PCR products of TIGR gene was done using conformation sensitive gel electrophoresis (CSGE). The probes with identified heteroduplexes were sequenced using an automatic DNA sequencer.

Results: During amplification of the coding regions of TIGR gene and the promoter sequences and flanking sequences of introns, 315 PCR products were obtained. The CSGE analysis of these PCR products allowed to detect 60 possible changes of sequence in 28 patients. 34 heteroduplexes were chosen for sequencing, including 29 unique changes and 5 changes representative for repeated, identical heteroduplexes. Direct sequencing allowed to detect only four different changes in TIGR gene sequence. Three of them: 5'UTR -83G→A (present in 14 patients), +227 exon 1 G→A, Arg76Lys (present in 14 patient) and +311 exon 3 T→C, Tyr347Tyr (present in 4 patients) were already described in literature as neutral polymorphisms of TIGR gene. Only one change in promoter: 5'UTR -126T→C (present in 2 patients) was not described in the literature to date. However, because this change doesn't alter directly the sequence of aminoacids in protein product of TIGR gene, it is very difficult to conclude its pathogenetic role.

Conclusions: Our studies have shown no TIGR gene changes that can be recognized as causative mutations in development of POAG. Thus, the definition of any genotype-phenotype correlation was impossible. The study on the role of the change in promoter sequence that was not yet described, will be continued. Exclusion of TIGR gene mutations in Polish patients with POAG means that they probably have mutations in other genes, what paves the way to the studies on other loci that predispose to POAG.

Słowa kluczowe: jaskra pierwotna otwartego kąta, genetyka, gen TIGR.

Key words: primary open angle glaucoma, genetics, TIGR gene.

### Wprowadzenie

Jaskra pierwotna otwartego kąta (JPOK) została uznana przez WHO za chorobę społeczną, ponieważ w krajach rozwiniętych stanowi główną przyczynę następującej podstępnie i bezbólowo, nieodwracalnej ślepoty. Z tego powodu od wielu lat trwają prace nad opracowaniem metod, pozwalających na możliwie najwcześniejszą identyfikację osób zagrożonych rozwojem jaskry, co pozwoliłoby na wczesne działania profilaktyczne. Najważniejszym czynnikiem ryzyka rozwoju jaskry otwartego kąta jest obciążony wywiad rodzinny.

Dziedziczenie choroby określa się zwykle jako wieloczynnikowe, jednak znane są liczne rodziny wykazujące proste dziedziczenie autosomalne dominujące. Badania genetyczne prowadzone metodą analizy sprzężeń pozwoliły na zmapowanie sześciu *loci* związanych z rozwojem jaskry pierwotnej otwartego kąta (patrz 6). W 1997 roku Stone i wsp. (11) zidentyfikowali w rejonie 1q21-q31 gen TIGR kodujący miocyninę i udowodnili, że mutacje genu TIGR są odpowiedzialne za rozwój JPOK, sprzężonej z tym *locus*, rok później zaś opisano strukturę i właściwości kodowanego przez ten gen białka

(9). Stało się to podstawą do rozpoczęcia na całym świecie licznych badań (1,4,5,8,10,13), w tym również tu opisanych, w poszukiwaniu mutacji genu TIGR, predysponujących do rozwoju JPOK.

### Cel pracy

Celem pracy była identyfikacja mutacji w obrębie genu TIGR u pacjentów z JPOK w populacji polskiej. Po identyfikacji mutacji zamiarem autorów była próba określenia ewentualnych korelacji genotypowo-fenotypowych, wskazujących na powiązania typu mutacji z obrazem klinicznym jaskry. Mogłoby to pozwolić na wykorzystanie badań molekularnych w identyfikacji osób predysponowanych do rozwoju JPOK, co umożliwiłoby prowadzenie wczesniej diagnostyki i profilaktyki zmian jaskrowych, a tym samym pozwoliłoby uniknąć nieodwracalnych zmian, następujących zwykle w okresie bezobjawowym choroby.

### Pacjenci i metody

Badania objęły pacjentów zidentyfikowanych retrospektywnie na podstawie historii chorób oraz zgłaszających się na bieżąco do Poradni Jaskrowej przy Katedrze i Klinice Okulistyki Akademii Medycznej w Poznaniu. U wszystkich pacjentów postawiono rozpoznanie kliniczne JPOK, które zostało zweryfikowane i potwierdzone poprzez wykonanie rutynowego badania okulistycznego, uzupełnionego o: 1) powtarzane badania ciśnienia śródgałkowego metodą tonometrii aplanacyjnej Goldmanna, 2) badanie gonioskopowe kąta tęczęwkowo-rogowkowego, 3) kilkukrotne badanie pola widzenia metodą statycznej perymetrii komputerowej perymetrem Humphreya oraz 4) stereoskopowe badanie tarczy nerwu wzrokowego w oftalmoskopii pośredniej. Do badań kwalifikowano pacjentów wykazujących wyjściowo podwyższenie ciśnienia śródgałkowego ponad 21 mmHg, stopień 3. lub 4. otwarcia kąta według Shafiera we wszystkich kwadrantach, postępujące, jaskrowe ubytki w polu widzenia oraz typowe dla jaskry zmiany tarczy nerwu wzrokowego. Stosując powyższe kryteria, zidentyfikowano 50

pacjentów uznanych za mających potwierdzone klinicznie rozpoznanie JPOK. Spośród nich 45 osób z różnych rodzin wyraziło zgodę na udział w badaniach, w tym 25 mężczyzn i 20 kobiet. Grupa ta stanowiła wówczas jedną z największych grup rodzin w Europie, badanych w kierunku mutacji genu TIGR (np. 2,12).

Od wszystkich pacjentów zebrano szczegółowy wywiad rodzinny, na którego podstawie dokonano wykreślenia i analizy rodowodu. W badanej grupie 21 pacjentów stanowiło sporadyczne przypadki choroby, u 24 zaś jaskra występowała również u innych członków najbliższej rodziny, tj. u krewnych I i II stopnia.

Po otrzymaniu zgody na pobranie krwi do badań od każdego z pacjentów pobierano 10 ml krwi żyłnej z żyły odłokciowej do probówek z 10% EDTA. DNA genomowe izolowano z limfocytów krwi obwodowej rutynową metodą wysalania białek. Następnie dokonano pomiaru stężenia otrzymanego roztworu DNA poprzez pomiar spektrofotometryczny absorpcji roztworu przy długości fali 269 nm i 320 nm. Stopień odbiałczenia preparatów DNA określono na podstawie stosunku absorbancji A260/A280 (Ultraspect 2000 Spectrophotometer – Amersham Pharmacia Biotech). Wykonane pomiary wykazały dobrą jakość wyizolowanego genomowego DNA.

Dla wszystkich pacjentów przeprowadzono reakcję PCR wszystkich trzech eksonów genu TIGR (MJ Research PTC-100 Thermal Cycler). Eksony pierwszy i trzeci zostały ze względu na swą wielkość zamplifikowane w trzech osobnych reakcjach PCR, ekson zaś drugi – w jednej. Warunki przeprowadzanych reakcji PCR były następujące: denaturacja wstępna 95°C, 30 sekund; wiązanie starterów 52-62°C (w zależności od pary starterów), 30 sekund; synteza 72°C, 5 minut. Startery i warunki zastosowane do reakcji PCR przedstawiono w tabeli I.

Jakość uzyskanych produktów PCR sprawdzano, przeprowadzając elektroforezę w 2% żelu agarozowym z bromkiem etydyny pod napięciem 70 V przez godzinę w obecności markera wielkości (DNA LadderRuler 100bp – MBI Fermentas).

Badanie przesiewowe w kierunku obecności zmian sekwencji w obrębie uzyskanych produktów PCR genu TIGR przeprowadzono za

Ekson Exon	Starter Primer	Sekwencja startera 5'→3' Primer's sequence 5'→3'	Produkt PCR PCR product	Temperatura hybrydyzacji (°C) Hybridization temperature (°C)
1	Ex1P1	AATCTTgCTggCAGCgTg	389 pz	60
1	Ex1P2	AgCTggATTCATTgggAC	389 pz	60
1	Ex1P3	TgCAATgAgCTTCTTCTg	421 pz	58
1	Ex1P4	TCCAACCTCTgCTTTggg	421 pz	58
1	Ex1P5	CAGTCATCCATAACTTAC	485 pz	56
1	Ex1P6	ATATCACCTgCTgAACTC	485 pz	56
2	Ex2P7	CATAgTCAATCCTTgggC	288 pz	54
2	Ex2P8	GggAACAgAgAgAgAgAg	288 pz	54
3	Ex3P9	ggATTAAGTgTggTgCTgCg	454 pz	62
3	Ex3P10	AATACgggAACTgTCggTgg	454 pz	62
3	Ex3P11	AgAAggAAATCCCTggAg	420 pz	60
3	Ex3P12	CATAAgTgACCATgTTCAAg	420 pz	60
3	Ex3P13	ATTgACTACAACCCCTG	450 pz	59
3	Ex3P14	GCTTgTggTAACCATgTAAC	450 pz	59

Tab. I. Zestawienie starterów wykorzystanych w reakcjach PCR.

Tab. I. Primers used in PCR amplification.

pomocą jednej z odmian analizy heterodupleksów – techniki CSGE (ang. conformation sensitive gel electrophoresis), rozdzielając 40-100 ng produktu PCR, wymieszanego z buforem obciążającym do elektroforezy CSGE, w 10% żelu poliakrylamidowym do CSGE. Elektroforezę przeprowadzano w grupach liczących po dwa lub trzy produkty PCR, w aparacie pionowym do sekwencjonowania (Model S102001 Sequencing Gel Electrophoresis Apparatus – Life Technologies) w następujących warunkach: 800 V, 5-8 godzin w buforze 0,5 x TTE. Żel wybarwiano bromkiem etydy, a następnie uzyskany obraz utrwalano za pomocą kamery wideo wchodzącej w skład systemu do dokumentacji żeli i przechowywano na środkach pamięci elektronicznej (Gel Doc™ 2000 Documentation System – BIO-RAD).

Po dokonaniu analizy obrazów CSGE zidentyfikowano próbki wykazujące obecność heterodupleksów, mogących świadczyć o zmianie sekwencji analizowanych fragmentów genu TIGR. Próbki te zostały poddane sekwencjonowaniu za pomocą automatycznego sekwenatora DNA (Alf Express – Pharmacia Biotech oraz ABI Prism 3100). W pierwszej kolejności sekwencjonowano produkty PCR generujące unikalne heterodupleksy. Jeśli obserwowano identyczne heterodupleksy u większej liczby osób, wówczas do sekwencjonowania zostały wybrane tylko jeden lub dwa z nich, ponieważ uwidaczniają one taką samą zmianę w sekwencji genu.

## Wyniki

Dla każdego z 45 pacjentów przeprowadzono siedmiokrotnie reakcję PCR, amplifikując poszczególne regiony kodujące genu

podwójnym heterodupleksem, wskazując na istnienie jednocześnie dwóch zmian sekwencji u jednego pacjenta. Do sekwencjonowania zakwalifikowano podwójny heterodupleks, jedną z pozostałych 13 identycznych zmian (nr 9) i jedną zmianę unikatową (nr 39). We fragmencie drugim eksonu 1. wystąpiło 14 identycznych zmian, z których wybrano do sekwencjonowania dwie (nr 9 i 38). Sekwencjonowano też wszystkie trzy unikatowe zmiany we fragmencie trzecim eksonu 1.

W eksonie 2. genu TIGR wykryto osiem heterodupleksów, z których wszystkie poddano sekwencjonowaniu.

We fragmencie pierwszym eksonu 3. stwierdzono osiem zmian (w tym cztery identyczne), z których sekwencjonowano sześć. Po sześć zmian wykryto we fragmencie drugim i trzecim eksonu 3. i wszystkie je sekwencjonowano.

Ogółem wśród 45 chorych po przebadaniu produktów PCR techniką CSGE zidentyfikowano 60 zmian u 28 chorych. U pacjenta numer 10 wykryto aż sześć zmian, u pacjentów 21, 22 i 39 – cztery, u pacjentów 9, 13, 34, 36 – trzy, u siedmiu pacjentów – dwie, u 13 zaś pacjentów – po jednej. Do sekwencjonowania wybrano 34 heterodupleksy, z czego 29 stanowiło zmiany unikatowe, pięć zaś było reprezentantami powtarzających się, identycznych heterodupleksów, stanowiących prawdopodobnie zmiany neutralne. Wyniki analizy CSGE przedstawiono zbiorczo w tabeli II.

Sekwencjonowanie dało następujące rezultaty. W obrębie fragmentu pierwszego eksonu 1. stwierdzono zmianę 5'UTR –83G→A w próbce nr 9 (reprezentującej 13 identycznych zmian) oraz zmianę 5'UTR –126T→C w próbce nr 39 (będącej zmianą unikatową).

Region genu TIGR TIGR gene region	Pacjenci z heterodupleksami Patients with heteroduplexes	Fragmety wybrane do sekwencjonowania Fragments chosen for sequencing
ekson 1./ exon 1 - fragment 1	9, 10, 13, 16, 17, 21, 22, 30, 33, 36, 37, 38, 39, 40, 45	13, 39 oraz 9 (jako reprezentant pozostałych identycznych)
ekson 1./ exon 1 - fragment 2	4, 5, 9, 10, 21, 22, 23, 32, 33, 36, 37, 38, 40, 45	9 i 38 (jako reprezentanci wszystkich - identycznych)
ekson 1./ exon 1 - fragment 3	10, 34, 44	10, 34, 44
ekson 2./ exon 2	7, 12, 17, 19, 25, 27, 30, 31	7, 12, 17, 19, 25, 27, 30, 31
ekson 3./ exon 3 - fragment 1	10, 13, 15, 23, 27, 31, 34, 39	10, 15, 31, 34 oraz 13 i 39 jako reprezentanci 4 pozostałych)
ekson 3./ exon 3 - fragment 2	10, 13, 21, 22, 34, 39	10, 13, 21, 22, 34, 39
ekson 3./ exon 3 - fragment 3	9, 10, 21, 22, 36, 39	9, 10, 21, 22, 36, 39

Tab. II. Zestawienie wyników analizy CSGE.

Tab. II. The results of CSGE analysis.

TIGR, a także poprzedzające sekwencje promotorowe i sekwencje flankujące przylegających intronów. Łącznie uzyskano 315 produktów PCR. Dobra jakość wszystkich uzyskanych produktów pozwoliła na włączenie ich do kolejnych badań. Analiza 315 produktów PCR techniką CSGE pozwoliła wykryć liczne zmiany sekwencji.

W eksonie 1. genu TIGR wykryto 32 heterodupleksy. Spośród nich w pierwszym fragmencie eksonu 1. wystąpiło 15. Z tej grupy 14 leżało na tej samej wysokości, co wskazuje, że zmiana występująca w tym regionie to neutralny polimorfizm. Jedna ze zmian (próbka nr 13) była

Podwójny heterodupleks (próbka nr 13) reprezentował dwie powyższe zmiany.

W obrębie fragmentu drugiego eksonu 1. stwierdzono zmianę +227 ekson 1 G→A, Arg76Lys w próbkach 9. i 38. (reprezentujących 14 identycznych zmian).

W trzech sekwencjonowanych próbkach fragmentu trzeciego eksonu 1. zmian sekwencji nie wykazano.

Sekwencjonowanie ośmiu próbek eksonu 2. również nie wykazało żadnych zmian sekwencji.

W obrębie fragmentu pierwszego eksonu 3. stwierdzono zmianę +311 ekson 3 T→C, Tyr347Tyr w próbkach 13. i 39. (reprezentujących 4 identyczne zmiany) oraz brak zmian sekwencji w czterech pozostałych próbkach.

W sześciu sekwencjonowanych próbkach z fragmentu drugiego oraz sześciu z fragmentu trzeciego eksonu 3. nie wykazano żadnych zmian sekwencji.

Zbiorcze wyniki sekwencjonowania przedstawia tabela III.

Podsumowując, należy stwierdzić, że we wszystkich analizowanych próbkach udało się potwierdzić metodą sekwencjonowania jedynie cztery różne zmiany sekwencji, obecne u 34 pacjentów. Trzy z nich: 5'UTR -83G→A (obecna u 14 pacjen-

Jedynie zmiana w obrębie promotora 5'UTR -126T→C (obecna u 2 pacjentów) nie została dotąd opisana w piśmiennictwie. Tym niemniej jako zmiana w obrębie sekwencji regulatorowych, poprzedzających ekson 1. nie wpływa ona bezpośrednio na sekwencję aminokwasów w produkcie białkowym genu. Tym samym bardzo trudno wnioskować o jej roli patogenetycznej, chociaż znane są doniesienia (np. 3) o wpływie mutacji punktowych w obrębie promotora genu TIGR na ciężkość przebiegu JPOK. Ewentualne dowiedzenie takiego wpływu obserwowanej zmiany wymaga jednak przeprowadzenia badań na dużej grupie kontrolnej osób zdrowych, aby wykluczyć możliwość jej występowania w populacji ogólnej.

Produkt PCR PCR product	Startery Primers	Zmiana sekwencji Sequence change	Nr pacjenta Patient No	Liczba zmian u pacjenta No of changes in a patient	Inni pacjenci z tymi samymi heterodupleksami Other patients with this heteroduplex
ekson 1./ exon 1 -fragment 1	Ex1P1 Ex1P2	-	8	-	kontrola/ control
		5'UTR -83G→A	9	1	10,16,17,21,22,30, 33,36,37,38,40,45
		5'UTR -126T→C	39	1	-
		5'UTR -83G→A 5'UTR -126T→C	13	2	-
ekson 1./ exon 1 -fragment 2	Ex1P3 Ex1P4	-	39	-	kontrola/ control
		+227 ekson 1 G→A, Arg76Lys	9, 38	1	4,5,10,21,22,23, 32,33,36,37,40,45
ekson 1./ exon 1 -fragment 3	Ex1P5 Ex1P6	-	8	-	kontrola/ control
		brak zmian no changes	10, 34, 44	-	-
ekson 2./ exon 2	Ex2P7 Ex2P8	brak zmian no changes	7, 12, 17, 19, 25, 27, 30, 31	-	-
ekson 3./ exon 3 -fragment 1	Ex3P9 Ex3P10	-	17	-	kontrola/ control
		+311 ekson 3 T→C, Tyr347Tyr	13, 39	1	23, 27
		brak zmian no changes	10, 15, 31, 34	-	-
ekson 3./ exon 3 -fragment 2	Ex3P11 Ex3P12	-	8	-	kontrola/ control
		brak zmian no changes	10, 13, 21, 22, 34, 39	-	-
ekson 3./ exon 3 -fragment 3	Ex3P13 Ex3P14	-	8	-	kontrola/ control
		brak zmian no changes	9, 10, 21, 22, 36, 39	-	-

Tab. III. Wyniki sekwencjonowania produktów PCR genu TIGR.

Tab. III. Results of TIGR gene PCR products sequencing.

tów), +227 ekson 1 G→A, Arg76Lys (obecna u 14 pacjentów) oraz +311 ekson 3 T→C, Tyr347Tyr (obecna u 4 pacjentów) zostały wcześniej opisane w piśmiennictwie jako znane polimorfizmy, obserwowane również u części osób zdrowych (np. 4,5).

Wyniki przedstawione w niniejszej pracy zostały wcześniej opublikowane w postaci krótkiego doniesienia (7).

## Wnioski

Niestety, należy uznać, że próba identyfikacji mutacji w genie TIGR u pacjentów z jaskrą pierwotną otwartego kąta nie wykazała żadnych zmian, które jednoznacznie można uznać za mutacje przyczynowe, prowadzące do rozwoju jaskry. Tym samym niemożliwe jest określenie jakichkolwiek korelacji genotypowo-fenotypowych.

Tym niemniej zespół realizujący niniejsze badania kontynuuje prace nad rolą nieopisywanej dotąd zmiany sekwencji promotora poprzez analizę jej ewentualnego występowania w większej grupie kontrolnej osób zdrowych. Pomocne w określeniu roli tej zmiany sekwencji będzie również badanie zdrowych członków rodzin osób je wykazujących.

Wykluczenie mutacji genu TIGR u pacjentów z rodzinnie występującą jaskrą oznacza też, że najprawdopodobniej posiadają oni mutacje w obrębie innych genów predysponujących do rozwoju jaskry. Tym samym materiał biologiczny pacjentów, zwłaszcza przypadków rodzinnie występujących, wykorzystany zostanie wkrótce do kontynuacji badań nad innymi *loci* genowymi (patrz 6) predysponującymi do jaskry pierwotnej otwartego kąta.

**PIŚMIENNICTWO:** 1. Alward W. L. M., Fingert J. H., Coote M. A., Johnson A. T., Lerner S. F., Junqua D., Durcan F. J., McCartney P. J., Mackey D. A., Sheffield V. C., Stone E. M.: *Clinical features associated with mutations in the chromosome 1 open-angle glaucoma gene (GLC1A)*. New Engl. J. Med., 1998, 338 (15), 1022-1027. 2. Brezin A. P., Adam M. F., Belmouden A., Lureau M. A., Chaventre A., Copin B., Gomez L., De Dinechin S. D., Berkani M., Valtot F., Rouland J. F., Dascotte J. C., Bach J. F., Garchon H. J.: *Founder effect in GLC1A-linked familial open angle glaucoma in Northern France*. Am. J. Med. Genet., 1998, 76 (5), 438-445. 3. Colomb E., Nguyen T. D., Bechetoille A., Dascotte J. -C., Valtot F., Brezin A. P., Berkani M., Copin B., Gomez L., Polansky J. R., Garchon H. -J.: *Association of a single nucleotide polymorphism in the TIGR/MYOCILIN gene promoter with the severity of primary open-angle glaucoma*. Clin. Genet., 2001, 60, 220-225. 4. Faucher M., Anctil J. -L., Rodrigue M. -A., Duchesne A., Bergeron D., Blondeau P., Cote G., Dubois S., Bergeron J., Arseneault R., The Quebec Global Network, Morissette J., Raymond V.: *Founder TIGR/myocilin mutations for glaucoma in the Quebec population*. Hum. Mol. Genet., 2002, 11 (18), 2077-2090.

5. Fingert J. H., Heon E., Liebmann J. M., Yamamoto T., Craig J. E., Rait J., Kawase K., Hoh S. T., Buys Y. M., Dickinson J., Hockey R. R., Williams-Lyn D., Trope G., Kitazawa Y., Ritch R., Mackey D. A., Alward W. L., Shieffield V. C., Stone E. M.: *Analysis of myocilin mutations in 1703 glaucoma patients from five different populations*. Hum. Mol. Genet., 1999, 8 (5), 899-905. 6. Krawczyński M. R.: *Podłoże genetyczne jaskry pierwotnej otwartego kąta*. Klinika Oczna – wysłane do druku. 7. Krawczyński M. R., Czarny-Ratajczak M., Pecold K., Latos-Bieleńska A.: *Only neutral polymorphisms found in TIGR/myocilin gene of 45 Polish patients with primary open-angle glaucoma*. J. Appl. Genet. – wysłane do druku. 8. Mansergh F. C., Kenna P. F., Ayuso C., Kiang A. S., Humphries P., Farrar G. J.: *Novel mutations in the TIGR gene in early and late onset open angle glaucoma*. Hum. Mutat., 1998, 11 (3), 244-251. 9. Nguyen T. D., Chen P., Huang W. D., Chen H., Johnson D., Polansky J. R.: *Gene structure and properties of TIGR/MYOC, an olfactomedin-related glycoprotein cloned from glucocorticoid-induced trabecular meshwork cells*. J. Biol. Chem., 1998, 273, 6341-6350. 10. Stoilova D., Child A., Brice G., Crick R. P., Fleck B. W., Safarazi M.: *Identification of a new TIGR mutation in a family with juvenile-onset primary open angle glaucoma*. Ophthalmic Genetics, 1997, 18 (3), 109-118. 11. Stone E. M., Fingert J. H., Alward W. L., Nguyen T. D., Polansky J. R., Sunden S. L., Nishimura D., Clark A. F., Nystuen A., Nichols B. E., Mackey D. A., Ritch R., Kalenak J. W., Craven E. R., Scheffeld V. C.: *Identification of a gene that causes primary open angle glaucoma*. Science, 1997, 275 (5300), 668-670. 12. Vazquez M. C., Herroero M. V. O., Bastus M. B., Perez D. V.: *Mutations in the third exon of MYOC gene in Spanish patients with primary open angle glaucoma*. Ophthalmic Genetics, 2000, 109-115. 13. Yoon S. -J. K., Kim H. -S., Moon J. -I., Lim J. M., Joo C. -K.: *Mutations of the TIGR/MYOC gene in primary open-angle glaucoma in Korea*. Am. J. Hum. Genet., 1999, 64, 1775-1778.

Praca została sfinansowana z projektu badawczego KBN nr 4. P05A. 051.17.

Wyniki przedstawione w niniejszej pracy opublikowano wcześniej w języku angielskim w postaci krótkiego doniesienia w Journal of Applied Genetics.

Praca wpłynęła do Redakcji 9.02.2004 r. (444).

Adres do korespondencji (Reprint requests to):  
dr hab. n. med. Maciej R. Krawczyński  
Katedra i Zakład Genetyki Medycznej AM w Poznaniu  
ul. Szpitalna 27/33  
60-572 Poznań