

# Comparative and molecular approaches to identifying polymorphisms in genes associated with Arthrogryposis multiplex congenita (AMC) in swine

**Doctoral Thesis**

**Author(s):**

Genini, Sem

**Publication date:**

2006

**Permanent link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005203227>

**Rights / license:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

DISS. ETH NO. 16527

**Comparative and molecular approaches to identifying polymorphisms in genes associated with Arthrogryposis multiplex congenita (AMC) in swine**

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH  
for the degree of  
Doctor of Sciences

presented by

**SEM GENINI**

Dipl. Ing. Agr. ETH

born 1<sup>st</sup> of July 1976  
citizen of Cresciano, Ticino

accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. G. Stranzinger, examiner  
Prof. Dr. P. Vögeli, co-examiner  
Prof. Dr. C. Wenk, co-examiner  
Prof. Dr. A. Archibald, external co-examiner

Zurich, 2006

## Summary

Arthrogryposis multiplex congenita (AMC), defined as permanent joint contractures present from birth, is one of the most common congenital defects in piglets and other mammals. For example, it is found in one of 3000 newborn babies. A genetic form of Arthrogryposis was recently identified in Swiss Large White (LW) pigs. At the beginning of 2004, at least 14 LW AI (artificial insemination) boars were known to be carriers of the defective allele and caused considerable economic losses to the Swiss pig industry. Piglets born with this syndrome had multiple defects of the legs and spinal column and did not survive. In order to study the disease, a highly inbred experimental herd with a total of 358 pigs was established. Of these, 84 (23.5%) were found to be affected, while the remaining 274 (76.5%) were normal. In the population under study, the disease was controlled by a single autosomal recessive allele designated as *amc*. A total of 219 pigs were used for linkage analysis, including seven full or half-sib founders (F<sub>1</sub>), three F<sub>0</sub>, 160 F<sub>2</sub> and 49 F<sub>3</sub> animals. A comprehensive genome scan revealed that the defective *amc* allele is located on SSC5. Significant pair-wise linkage (LOD > 6.00) was found for AMC and eight marker loci. The order that best fit with the data was *SW963-SW1987-SW152-AMC-(SW904, SW1094)-SWR1526-(SWR1974, SW310)*. AMC was mapped by both linkage and QTL analyses to the relative position 92 cM, between *SW152* and *SW904/SW1094*, which are located in bands q12-q23. To identify further genetic markers that can help to eliminate the disease and to determine the similarity between SSC5 and human chromosomes, porcine homologues of 18 human genes, which are interesting positional and functional candidates for AMC, were placed onto this swine chromosome with the INRA-Minnesota swine radiation hybrid panel (IMpRH). Fifteen genes (*CACNA1C*, *COL2A1*, *CPNE8*, *C12ORF4*, *DDX11*, *GDF11*, *HOXC8*, *KCNA1*, *MDS028*, *MGC5576*, *PHB2*, *PRICKLE1*, *SCN8A*, *TUBA8* and *USP18*) were selected from pig-human comparative database analysis. The remaining three functional candidates, *C3F*, *NR4A1* and *Q6ZUQ4* were selected from a microarray experiment comparing the genes expressed in an AMC-affected piglet with genes expressed in a normal piglet in three tissues (brain, muscle and spinal cord). Tissue samples were isolated at birth from the cerebellum, the musculus longissimus dorsi and the upper part of the spinal cord (where the AMC piglets showed scoliosis). The RNA was extracted from the tissues and reverse transcribed to cDNA. The cDNA was labeled with Cy3 and Cy5 for a dye swap experiment and hybridized on self-printed Qiagen pig 13K arrays containing probes for about 13,000 porcine transcripts. Twelve measurements were obtained from six slides and the results were analyzed with the BlueFuse and GeneSpring programs. Only the genes with a high confidence tag in each pair of dye

swap slides were considered. In the diseased piglet, 308 genes (~2.4%) were differentially expressed (fold change >2), 131 were upregulated and 177 downregulated. Only one gene (*SFRS6*) was overexpressed and none underexpressed in all three tissues of the AMC piglet. The differential expression of *C3F*, *NR4A1*, *Q6ZUQ4*, *SFRS6* and *SLC2A1* was also examined by real-time PCR with a TaqMan assay. The microarray findings were confirmed in all the genes but not in all the tissues, the exceptions being *SFRS6* in the brain and *SLC2A1* in the muscle. Five genes (*CPNE8*, *PRICKLE1*, *Q6ZUQ4*, *TUBA8* and *USP18*) mapped to the interval believed to contain the gene that causes AMC. The mapping data suggested that the chromosomal regions from *TUBA8* to *USP18* on HSA22 and from *CPNE8* to *PRICKLE1* on HSA12, spanning about 4.5 Mb and containing 16 genes, are the human counterparts of the region containing the porcine AMC locus. Furthermore, the findings of radiation hybrid mapping for SSC5q12-q22 revealed that, between the segments of HSA12p13 and HSA12q12, there is a small chromosomal interval of HSA22q11.2, spanning less than one million base pairs and containing human homologues of microsatellite *SW152* and genes *Q6ZUQ4*, *TUBA8* and *USP18*. Seven breakpoint blocks were identified and further comparative information was obtained about the extensive rearrangements in the order of the genes between HSA12, HSA22 and SSC5 in the proximity of the AMC region. Hence, 17 partial gene sequences of *ABCD2*, *CNTN1*, *CPNE8*, *FOXMI*, *KCNA1*, *KIF21A*, *SLC2A13*, *TUBA8* and *YAF2* were compared between normal and diseased piglets in order to provide additional markers for fine mapping, linkage mapping and association studies and to describe the AMC region in more detail. Genetic differences, strongly associated with the defect in the research population, were found in *TUBA8* and *CNTN1*. Three SNPs in *TUBA8* and one SNP in *CNTN1* co-segregated with the AMC phenotype in 230 pigs of the experimental herds without recombination events (LOD scores of 38.5 and 24.1, respectively). However, based on examinations of affected pigs on commercial farms, these mutations are not considered to cause AMC. Furthermore, a new microsatellite (*bE77*) locus was identified in the region. The allele *bE77*<sup>306</sup> co-segregated in the resource family with *amc* without recombination (LOD score = 51.2). An already assembled physical contig, containing BAC clones carrying the microsatellites of interest, combined with the information of 15 recombinant pigs in the studied family, enabled the delineation of a new order of loci on SSC5: *SW152-bE77-TUBA8-(AMC/CNTN1)-SW904/SW1094*. The microsatellites *bE77* and *SW904* were used as genetic markers to predict the susceptibility to AMC of 80 LW AI boars in Switzerland. The alleles *bE77*<sup>306</sup>, *SW904*<sup>180</sup> and *SW904*<sup>172</sup>, strongly associated with the disease in the experimental herd, indicated a higher risk of susceptibility to AMC for 17 boars (21.3%). This marker test

was also applied to 41 piglets from 14 commercial families, believed to be affected with AMC. The results confirmed the previous diagnosis in 34 cases (83%) and revealed incorrect paternities in three families. In conclusion, we developed a powerful and highly reliable marker test to discover *AMC* carriers and, thus, to limit the incidence and spread of the disease and to reduce economic losses in the Swiss pork industry. Furthermore, the results reported here are an important roadmap for future studies of poorly understood forms of AMC in humans and other species. They are a useful tool for collecting data for determining the order of genes for the sequencing project of the pig genome.

## Zusammenfassung

Arthrogryposis multiplex congenita (AMC), definiert als dauerhafte Kontraktion der Gliedmassen bei Geburt, ist eine der häufigsten kongenitalen Defekte bei Ferkeln und anderen Säugetieren. Sie kommt in einem von 3000 Neugeborenen vor. Eine genetische Form von AMC wurde kürzlich in der Schweiz bei Edelschweinen (ES) entdeckt. Anfangs 2004 waren mindestens 14 ES KB (künstliche Besamung)-Eber Träger des defekten Allels und verursachten beträchtliche ökonomische Verluste in der schweizerischen Schweineproduktion. Ferkel mit diesem Syndrom hatten steife und meist gekrümmte Gliedmassen und eine gewölbte Wirbelsäule. Sie waren nicht lebensfähig. Um die Krankheit genetisch zu untersuchen, züchteten wir eine experimentelle Herde mit insgesamt 358 Schweinen. Von diesen waren 84 (23.5%) krank, während die restlichen 274 (76.5%) normal waren. In der Population wurde die Krankheit durch ein einzelnes autosomal rezessives Allel vererbt, das als *amc* bezeichnet wurde. Im Ganzen wurden 219 Schweine für die Kopplungsanalyse benützt, einschliesslich sieben Voll- oder Halbgeschwistergründer (F<sub>1</sub>), drei F<sub>0</sub>-, 160 F<sub>2</sub>- und 49 F<sub>3</sub>-Tiere. Mit einem umfassenden Genomscan konnte AMC Schweine-Chromosom 5 (SSC5) zugewiesen werden. Eine signifikante paarweise Kopplung (LOD-Score > 6.00) wurde für AMC und acht weitere Marker gefunden. Die wahrscheinlichste Reihenfolge der Loci war *SW963-SW1987-SW152-AMC-(SW904, SW1094)-SWR1526-(SWR1974, SW310)*. AMC wurde mit Kopplungs- und QTL-Analysen auf die relative Position 92 cM kartiert, zwischen *SW152* und *SW904/SW1094*, die in den Bändern q12-q23 liegen. Um weitere genetische Marker zu identifizieren, die in einem diagnostischen Gentest zur Reduktion der Häufigkeit von AMC-Schweinen verwendet werden könnten, und um die Ähnlichkeit zwischen SSC5 und menschlichen Chromosomen festzustellen, wurden 18 Schweinehomologe zu menschlichen Genen, die sowohl als positionelle wie auch als funktionelle Kandidaten für AMC interessant sind, mit dem INRA-Minnesota Radiation Hybrid Panel (IMpRH) auf SSC5 kartiert. Fünfzehn Gene (*CACNA1C*, *COL2A1*, *CPNE8*, *C12ORF4*, *DDX11*, *GDF11*, *HOXC8*, *KCNA1*, *MDS028*, *MGC5576*, *PHB2*, *PRICKLE1*, *SCN8A*, *TUBA8* und *USP18*) stammten aus der vergleichenden Datenbank Schwein/Mensch. Die restlichen drei funktionellen Kandidaten *C3F*, *NR4A1* und *Q6ZUQ4* wurden aus dem Mikrochip-Experiment ausgewählt, welches die exprimierten Gene eines AMC-kranken Ferkels mit jenen eines normalen Ferkels in drei Geweben (Gehirn, Muskel und Rückenmark) verglich. Die Gewebeproben wurden kurz nach der Geburt vom Kleinhirn, dem musculus longissimus dorsi und dem oberen Teil des Rückenmarks (wo die AMC-Ferkel Skoliose zeigten) genommen, anschliessend die RNA extrahiert und in die cDNA revers transkribiert.

Die cDNA wurde mit Cy3 und Cy5 für ein Färbungstauschexperiment markiert und mit Oligonukleotiden auf selbst aufgespritzten Schweine Qiagen 13K Microchip-Platten hybridisiert. Der Mikrochip enthielt ungefähr 13000 Schweinegenproben. Auf den sechs Microchips wurden zwölf Messungen durchgeführt. Die Resultate wurden mit den Programmen BlueFuse und GeneSpring ausgewertet. Nur die Gene mit einem hohen Vertrauensgrad in jedem Färbungstauschexperiment wurden betrachtet. Im AMC-Ferkel wurden 308 Gene (~2.4%) unterschiedlich exprimiert (Expressionsunterschied > 2), davon waren 131 über- und 177 unterreguliert. Nur ein Gen (*SFRS6*) war in allen drei Geweben des AMC-Ferkels überexprimiert. Die unterschiedliche Expression von *C3F*, *NR4A1*, *Q6ZUQ4*, *SFRS6* und *SLC2A1* wurde auch mit Realzeit-PCR in einem TaqMan-Experiment überprüft. Die Resultate der Mikrochipanalyse wurden in allen Genen aber nicht in allen Geweben bestätigt, mit Ausnahme von *SFRS6* im Gehirn und *SLC2A1* im Muskel. Fünf Gene (*CPNE8*, *PRICKLE1*, *Q6ZUQ4*, *TUBA8* und *USP18*) wurden im Interval kartiert, das das verursachende Gen für AMC enthalten könnte. Die Kartierungsdaten zeigten, dass die chromosomalen Regionen von *TUBA8* bis *USP18* auf HSA22 und von *CPNE8* bis *PRICKLE1* auf HSA12, die ungefähr 4.5 Mb lang sind und 16 Gene enthalten, die menschlichen Gegenstücke zur AMC-Region bilden. Ausserdem ergaben die Resultate der Radiation Hybrid Panel-Kartierung für SSC5q12-q22, dass zwischen den Segmenten HSA12p13 und HSA12q12 ein kleiner chromosomaler Abschnitt von HSA22q11.2 besteht, der weniger als eine Million Basen umfasst, und der die menschlichen Gegenstücke zum Mikrosatelliten *SW152* und zu den Genen *Q6ZUQ4*, *TUBA8* und *USP18* enthält. Wir identifizierten sieben Blöcke und erhielten weitere vergleichende Informationen über die umfangreichen Anordnungen der Gene zwischen HSA12, HSA22 und SSC5 in der Nähe der AMC-Region. Weiter wurden 17 Teilsequenzen von *ABCD2*, *CNTN1*, *CPNE8*, *FOXM1*, *KCNA1*, *KIF21A*, *SLC2A13*, *TUBA8* und *YAF2* zwischen normalen und kranken Ferkeln verglichen, um zusätzliche Marker für die Feinkartierung, Kopplungsanalyse und Assoziationsstudien zu erhalten und um die AMC-Region ausführlicher zu beschreiben. Genetische Unterschiede, die stark mit dem Defekt in der experimentellen Herde gekoppelt waren, wurden in *TUBA8* und *CNTN1* gefunden. Drei SNPs in *TUBA8* und ein SNP in *CNTN1* kosegregierten mit dem AMC-Phänotyp in 230 Schweinen der experimentellen Herde ohne Rekombination (LOD-Score von 38.5 beziehungsweise 24.1). Basierend auf Untersuchungen von betroffenen Schweinen in kommerziellen Populationen, waren diese Mutationen nicht kausal für AMC verantwortlich. Ausserdem wurde ein neuer Mikrosatellit (*bE77*) gefunden. In der Ressourcenfamilie kosegregierte das Allel *bE77*<sup>306</sup> mit *amc* zu 100% (LOD-Score = 51.2).

Ein bereits zusammengesetztes physikalisches Contig, das BAC-Klone mit den interessierenden Mikrosatelliten enthielt, kombiniert mit den Informationen von 15 rekombinanten Schweinen der untersuchten Familie, ermöglichte folgende neue Anordnung der Loci auf SSC5: *SW152-bE77-TUBA8-(AMC/CNTN1)-SW904/SW1094*. Die Mikrosatelliten *bE77* und *SW904* wurden als genetische Marker für *AMC* benützt, um mögliche Träger aus den 80 LW KB Ebern zu eruieren. Die Allele *bE77*<sup>306</sup>, *SW904*<sup>180</sup> und *SW904*<sup>172</sup>, die in der experimentellen Herde in einem hohen Kopplungsungleichgewicht mit *AMC* waren, kamen bei 17 Ebern (21.3%) vor. Dieser Markertest wurde bei 41 verdächtigen *AMC*-Ferkeln angewendet, die aus 14 Familien aus der Praxis stammten. Die Resultate bestätigten die Krankheitsdiagnose in 34 Fällen (83%) und deckten in drei Familien falsche Vaterschaften auf. Zusammenfassend gesagt, entwickelten wir einen leistungsfähigen und in hohem Ausmass zuverlässigen Markertest, um *AMC*-Träger zu entdecken und damit die Ausbreitung der Krankheit zu verringern und ökonomische Verluste in der schweizerischen Schweineproduktion zu vermindern. Ausserdem stellen die Resultate einen wichtigen Beitrag für zukünftige Studien von kaum erforschten Formen von *AMC* beim Menschen und anderen Spezies dar. Sie sind auch ein nützliches Werkzeug für die Organisation einer Datensammlung und für die Bestimmung der Anordnung der Gene im Hinblick auf das Sequenzierungsprojekt des Schweinegenoms.



## Riassunto

L'Arthrogyrosis multiplex congenita (AMC) rappresenta uno dei difetti congeniti più comuni nel maiale come, in generale, in tutti i mammiferi. Si manifesta fin dalla nascita con permanenti contratture delle articolazioni ed è, per esempio, riscontrata negli umani con una frequenza di un neonato affetto su 3000 nati. Una forma genetica d'artrogrosi è stata recentemente identificata in Svizzera nella razza suina Large White (LW). Analisi condotte hanno permesso di identificare, ad inizio 2004, almeno 14 verri utilizzati in un programma d'inseminazione artificiale (IA) portatori dell'allele difettoso, con considerevoli perdite economiche per il settore suinicolo svizzero. I maialini nati con questa sindrome presentano molteplici difetti alle gambe ed alla colonna vertebrale tali da non consentirne la sopravvivenza. Allo scopo di analizzare geneticamente questa patologia è stata creata una famiglia sperimentale di 358 maiali altamente consanguinea, di cui 84 animali (23.5%) presentavano la tipica sintomatologia, mentre 274 (76.5%) non risultavano presentare alcun sintomo. Appare così evidente come, in questa popolazione, la malattia risulti controllata da un singolo allele autosomale recessivo indicato come *amc*. Un campione di 219 maiali, costituito da sette animali "half o full sib" fondatori (F<sub>1</sub>), tre F<sub>0</sub>, 160 F<sub>2</sub> e 49 F<sub>3</sub>, è stato usato in un'analisi di "linkage". Attraverso analisi comprensiva del genoma, è stato dimostrato come l'allele difettoso *amc* sia posizionato sul cromosoma 5 di maiale (SSC5). Un significativo "pair-wise linkage" (LOD > 6.00) è stato trovato per AMC e otto marcatori. L'ordine che meglio si adattava con i dati era *SW963-SW1987-SW152-AMC-(SW904, SW1094)-SWR1526-(SWR1974, SW310)*. Attraverso sia analisi di "linkage" che di QTL, è stato possibile mappare AMC alla posizione relativa di 92 cM, tra *SW152* e *SW904/SW1094*, situati nelle bande q12-q23. Per l'identificazione d'ulteriori marcatori genetici utili ad eliminare la malattia ed a determinare la similarità di SSC5 con cromosomi umani, si è proceduto alla mappatura sul cromosoma SSC5 di 18 geni suini omologhi di geni umani, riconosciuti come interessanti candidati posizionali e funzionali per AMC, mediante l'"INRA-Minnesota swine radiation hybrid panel" (IMpRH). Quindici di questi geni (*CACNA1C, COL2A1, CPNE8, C12ORF4, DDX11, GDF11, HOXC8, KCNA1, MDS028, MGC5576, PHB2, PRICKLE1, SCN8A, TUBA8* e *USP18*) sono stati scelti tramite analisi comparativa delle sequenze geniche depositate in banca dati, mentre i rimanenti tre (*C3F, NR4A1* e *Q6ZUQ4*) da un'analisi d'espressione genica basata su tecnologia microarray tra maiali affetti e soggetti sani condotta su tre diversi tessuti (cervello, muscolo e midollo spinale). I campioni di tessuto sono stati prelevati alla nascita rispettivamente dal cervelletto, dal muscolo *longissimus dorsi* e dalla parte superiore del midollo spinale (dove i soggetti

affetti da AMC presentano scoliosi). Dopo averne estratto l'RNA si è quindi proceduto alla produzione dei rispettivi cDNA tramite trascrizione inversa. I cDNA sono stati marcati con i fluorofori Cy3 e Cy5 come indicato nel protocollo per “dye swap experiments” e quindi ibridizzati su self-printed Qiagen pig 13K arrays contenenti circa 13000 geni porcini. Un totale di dodici misure sono state ottenute da sei vetrini ed i relativi risultati analizzati con i programmi GeneSpring e BlueFuse. Solamente i geni presentanti valori affidabili per ogni coppia di vetrini sono stati considerati. Nel soggetto affetto, 308 geni (~2.4%) hanno manifestato espressione differenziale (differenza d'espressione > 2), e precisamente 131 sono risultati essere sovraespressi mentre 177 sottoregolati. In particolare il solo gene *SFRS6* è risultato essere sovraespresso nel soggetto affetto in tutti e tre i tessuti contemporaneamente, mentre nessuno sottoespresso. In seguito si è proceduto all'analisi d'espressione di *C3F*, *NR4A1*, *Q6ZUQ4*, *SFRS6* e *SLC2A1* attraverso “real-time” PCR basata su chimica TaqMan. Questa ha confermato i risultati ottenuti in precedenza tramite analisi microarray, con le sole eccezioni rappresentate da *SFRS6* nel cervello e *SLC2A1* in muscolo. Cinque geni (*CPNE8*, *PRICKLE1*, *Q6ZUQ4*, *TUBA8* e *USP18*) sono stati mappati nell'intervallo ipotizzato contenere il gene responsabile della patologia. Questi dati di mappatura suggerivano che le regioni cromosomiche comprese tra *TUBA8* e *USP18* su HSA22 e tra *CPNE8* e *PRICKLE1* su HSA12, lunghe circa 4.5 Mb e contenenti 16 geni, siano le controparti umane della regione contenente il locus *AMC* suino. Nello stesso modo il mappamento per SSC5q12-q22 ha rivelato che, fra i segmenti di HSA12p13 e di HSA12q12, è presente un piccolo intervallo cromosomico di HSA22q11.2, che misura meno di un milione di basi, e che contiene gli omologhi umani del microsatellite *SW152* e dei geni *Q6ZUQ4*, *TUBA8* e *USP18*. Sette “breakpoints blocks” sono stati identificati ed ulteriori informazioni comparative sono state ottenute sulle molteplici riorganizzazioni nell'ordine dei geni fra HSA12, HSA22 e SSC5 in prossimità della regione *AMC*. Partendo da ciò, 17 sequenze parziali dei geni *ABCD2*, *CNTN1*, *CPNE8*, *FOXM1*, *KCNA1*, *KIF21A*, *SLC2A13*, *TUBA8* e *YAF2* sono state comparate fra individui sani ed affetti nell'intento di ottenere sia dei marcatori supplementari da utilizzare in ulteriori studi di “linkage” e di associazione, che una descrizione e mappatura più fine della regione di *AMC*. Differenze genetiche fortemente connesse con il difetto sono state trovate nella popolazione in analisi in *TUBA8* ed in *CNTN1*. Tre SNPs in *TUBA8* ed uno SNP in *CNTN1* sono risultati co-segregare senza eventi di ricombinazione (valori LOD di 38.5 e 24.1 rispettivamente) con il fenotipo *AMC* in 230 maiali. Tuttavia, dopo aver esaminato capi affetti provenienti da allevamenti commerciali, queste mutazioni sono state escluse essere la causa della patologia. In seguito un nuovo microsatellite (*bE77*) è stato

identificato nella regione. L'allele *bE77*<sup>306</sup> è risultato co-segregare con *amc* senza ricombinazioni (LOD = 51.2). Un “physical contig” già assemblato, contenente cloni BAC portanti i microsatelliti d'interesse, uniti alle informazioni di 15 maiali ricombinanti appartenenti alla famiglia studiata, ha permesso la delineazione di un nuovo ordine di loci su SSC5: *SW152-bE77-TUBA8-(AMC/CNTN1)-SW904/SW1094*. I microsatelliti *bE77* e *SW904* sono stati poi utilizzati come marcatori genetici per la predizione della suscettibilità verso questa patologia di 80 verri LW utilizzati per l'inseminazione artificiale in Svizzera. Gli alleli *bE77*<sup>306</sup>, *SW904*<sup>180</sup> e *SW904*<sup>172</sup>, strettamente associati alla malattia, hanno indicato un elevato rischio predispositivo per AMC in 17 sugli 80 verri analizzati (21.3%). Questo test di marcatori è stato poi applicato a 41 maialini, appartenenti a 14 famiglie commerciali, ritenuti essere affetti da AMC. I risultati hanno confermato la diagnosi precedente in 34 casi (83%) mentre hanno rivelato casi di falsa paternità in tre delle 14 famiglie. In conclusione, in questo lavoro è stato sviluppato un potente ed altamente affidabile test, basato su marcatori molecolari, per l'identificazione di capi portatori di AMC, utilizzabile per limitare l'incidenza e la diffusione della malattia e per ridurre così le perdite economiche al settore suinicolo svizzero. I risultati riportati costituiscono inoltre un'importante base per futuri studi su forme poco conosciute d'AMC negli umani, come pure in altre specie. Essi rappresentano anche un utile mezzo di raccolta dati per la determinazione dell'ordine dei geni nell'ormai prossimo progetto di sequenziamento del genoma del maiale.