

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra obecné zootechniky a etologie



**Role genu MC1R v determinaci pigmentace u vybraných
druhů zvířat**

Bakalářská práce

Autor práce: Tereza Anderlíková

Obor studia: ABPS

Vedoucí práce: Ing. Barbora Hofmanová, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Role genu MC1R v determinaci pigmentace u vybraných druhů zvířat" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20. 3. 2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí Ing. Barbora Hofmanová, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost, užitečné rady a pomoc při zpracování této práce. Dále bych chtěla poděkovat rodině a přátelům za podporu a pomoc během mého studia.

Role genu MC1R v determinaci pigmentace u vybraných druhů zvířat

Souhrn

Pigmentace je obecně u zvířat určena přítomností melaninů v srsti. Je známo více než 300 lokusů a 150 genů vztahujících se k pigmentaci a zbarvení srsti u zvířat.

Jedním z těchto genů je melanokortin 1 receptor (MC1R) na lokusu EXTENSION, který hraje významnou roli v regulaci syntézy eumelaninu a feomelaninu. U savců je gen vyjádřen zejména v chlupovém folikulu a kožních melanocytech. MC1R váže α melanocyty stimulující hormon (α – MSH) vyvolávající syntézu eumelaninu. Mutace MC1R má za následek změnu typu vznikajícího pigmentu u různých druhů zvířat. Signalizace melanokortinu je také regulována přirozeně se vyskytujícími antagonisty. Silným antagonistou je Agouti protein (ASIP).

Nejlépe studovaným druhem je myš, u které byly eumelanin a feomelanin identifikovány a charakterizovány. Dominantní alely na lokusu EXTENSION jsou spojeny s černou barvou srsti, zatímco recesivní alely způsobují červené/žluté zbarvení.

U prasat byly popsány na lokusu EXTENSION tyto alely: E^D (černá), E^P (bílá s černými odznaky) a e (červená), dále E^1 , způsobující hnědé podélné pruhy u mladých zvířat a alela divokého typu zbarvení E^+ .

U skotu se vyskytují alely E^D , E^+ a e . Alela E^D způsobuje černou barvu srsti, alela E^+ je divoký typ alely, která způsobí fenotyp podobný původnímu divokému zbarvení pratura, alela e způsobuje červenou barvu srsti.

U ovcí byly popsány na lokusu EXTENSION dvě alely - E^D (dominantní černá), která může odpovídat za černou barvu některých plemen a alela E^+ , což je alela divokého typu.

U koní je recesivní mutace v genu MC1R spojována s ryzím zbarvením (genotyp ee).

U králíků jsou na lokusu EXTENSION známy tyto alely: E^D (dominantní černá), E^S („ocelová“ barva), E (divoký typ, běžně rozšířená černá), e^J (japonské žihání, mozaika černé a žluté) a e (žlutá/červená s bílým břichem).

Vliv genu MC1R na pigmentaci byl potvrzen nejen u savců ale také u ptáků, plazů a ryb. Navíc se ukázalo, že může mít vliv rovněž na temperament, imunitní systém a jiné fyziologické a behaviorální funkce. Na intenzitu pigmentace srsti mohou mít kromě genů vliv také přírodní podmínky, roční období a další vnější faktory, jako například výživa.

Klíčová slova: MC1R, pigmentace, zvířata, mutace, zbarvení

MC1R gene role in the pigment synthesis determination in selected animal species

Summary

Pigmentation is generally determined by the presence of melanin in the coat of animals. There are more than 300 loci and 150 genes associated with pigmentation and coat color in animals.

One of these genes is the melanocortin 1 receptor (MC1R) at locus EXTENSION, which has important role in regulating the synthesis of eumelanin and pheomelanin. In mammals, the gene is expressed especially in the coat follicle and skin melanocytes. MC1R binds α melanocyte stimulating hormone (α – MSH) including the synthesis of eumelanin. MC1R mutation results in a change in the type of pigment resulting in various animal species. Melanocortin signaling is also regulated by a naturally occurring antagonist. The Agouti protein (ASIP) is a potent antagonist.

The best studied species is a mouse in which the eumelanin and pheomelanin were identified and characterized. Dominant alleles per locus EXTENSION are associated with the black coat color while recessive alleles causing red/yellow color.

In pigs have been reported to the locus EXTENSION these alleles: E^D (black), E^P (black spotting) a e (red), further E^1 , causing brown longitudinal stripes in young animals and wild type allele E^+ .

In cattle occur alleles E^D , E^+ a e . Allele E^D causes a black color coat, allele E^+ is a wild type allele, which causes a phenotype simile to the original wild aurochs coloring, allele e causes a red color coat.

In sheep have been described two alleles to the locus EXTENSION - E^D (dominant black), that may be responsible for the black color in some breeds and allele E^+ , which is wild type allele.

In horses, a recessive mutation in the MC1R gene is associated with a chestnut color (genotype ee).

In rabbits, there are known these alleles in locus EXTENSION: E^D (dominant black), E^S (steel), E (wild type, normal extension of black), e^J (Japanese brindling, mosaic distribution of black and yellow)) and e (yellow/red with white belly).

The influence of the gene MC1R to pigmentation was confirmed not only in mammals but also birds, reptiles and fish. Additionally it was shown, that maybe it has an impact on temperament, the immune system and other physiological and behavioral functions. The

intensity of pigmentation can also be unaffected in natural conditions, seasons and other external factors, such as nutrition.

Keywords: MC1R, pigmentation, animals, mutation, coloring

Obsah

1 Úvod	1
2 Cíl práce	2
3 Literární rešerše	3
3.1 Pigmentace	3
3.1.1 Melanogeneze	4
3.1.1.1 Melanin.....	4
3.1.1.2 Produkce melaninu.....	5
3.1.1.3 Rozšíření melaninu	6
3.2 MC1R	7
3.3 Význam MC1R ve fylogenezi	9
3.4 Zbarvení	10
3.4.1 Divoké zbarvení	10
3.4.2 Bílé zbarvení	10
3.4.3 Černé zbarvení	10
3.4.4 Červené zbarvení.....	10
3.5 MC1R u vybraných druhů zvířat	11
3.5.1 Myš domácí (<i>Mus musculus</i>)	11
3.5.2 Prasata	12
3.5.2.1 Divoká prasata	12
3.5.2.2 Domácí prasata	14
3.5.3 Tur domácí (<i>Bos primigenius</i> f. <i>taurus</i>)	14
3.5.4 Ovce domácí (<i>Ovis orientalis aries</i>)	15
3.5.5 Koza domácí (<i>Capra aegagrus hircus</i>).....	16
3.5.6 Kůň domácí (<i>Equus ferus caballus</i>).....	16
3.5.7 Králík domácí (<i>Oryctolagus cuniculus</i> f. <i>domesticus</i>).....	17
3.5.8 Pes domácí (<i>Canis lupus familiaris</i>)	18
3.5.9 Kojot (<i>Canis latrans</i>)	19
3.5.10 Kamzík (<i>Rupicapra</i>).....	20
3.5.11 Lama (<i>Lama guanicoe</i>)	20
3.5.12 Buvol (<i>Bubalus bubalis bubalis</i>)	21
3.5.13 Liška obecná (<i>Vulpes vulpes</i>)	21
3.5.14 Liška polární (<i>Alopex lagopus</i>).....	22
3.5.15 Primáti (Primates)	23
3.5.16 Ptáci (Aves)	24
3.5.17 Hadi (Serpentes).....	25
3.5.18 Ryby (Osteichthyes).....	26
3.6 MC1R u lidí	28

3.7	Využití genetické analýzy k identifikaci plemene	29
3.7.1	Parmigiano Reggiano	29
3.7.2	RDO sýry.....	29
4	Závěr	31
5	Seznam použité literatury.....	32

1 Úvod

Pigmentace srsti hraje rozhodující roli při maskování, mimikrách, sociální komunikaci a dalších biologických procesech. Působením genů a jiných vnějších i vnitřních faktorů vzniká obrovské množství barevných variant.

Toto množství se ještě zvyšuje vlivem domestikace. Proces domestikace způsobuje modifikace fenotypu i genotypu. Domestikace způsobuje vznik nových fenotypových a behaviorálních vlastností u domácích zvířat ve srovnání s jejich divokými předky. Vlivem přímé selekce zásahem člověka vznikají barevné varianty, které by za normálních okolností ve volné přírodě pravděpodobně nevznikly.

Geny ovlivňující zbarvení však mohou mít vliv také na chování zvířat. Proto je výhodné znát roli jednotlivých genů při pigmentaci srsti.

Tato práce bude zaměřena především na roli melanokortin 1 receptoru, který hraje klíčovou roli při pigmentaci srsti u zvířat. Reguluje syntézu eumelaninu a feomelaninu, dvou základních pigmentů určujících zbarvení srsti.

2 Cíl práce

Cílem této práce bude literární rešerše o determinaci pigmentace u vybraných druhů zvířat se zaměřením na gen MC1R.

3 Literární rešerše

3.1 Pigmentace

Pigmentace je obecně u zvířat určena přítomností melaninů v srsti (Russo et al., 2009). Přes určité rozdíly mezi druhy, pigmentace u savců je vysoce konzervativní proces (Daverio et al., 2016). Zvířecí pigmentace je často dramatická a nápadně krásná, má mnoho funkcí včetně termoregulace a signalizace (McRobie et al., 2014). Kožní melanin také hraje rozhodující roli při maskování, mimikrách, sociální komunikaci a ochraně před škodlivými účinky slunečního záření (Slominski et al., 2004). Siefferman and Hill (2005) zjistili, že barva peří u ptáků může mít vliv na reprodukci, parazitální zatížení a životaschopnost jedinců. Zbarvení také funguje jako signál bojové schopnosti u samců.

Je známo více než 150 genů a 300 lokusů vztahujících se k pigmentaci a zbarvení srsti u zvířat (Xi et al., 2012). Tyto geny mohou být rozděleny do dvou hlavních skupin. První skupina genů působí na melanocyty – tedy na vývoj, diferenciaci, proliferaci a migraci. Druhá skupina působí přímo na syntézu pigmentu. Variace ve zbarvení kůže je tedy chápána jako účinek modifikovaných genů, které způsobují změny buď na melanocytech nebo v syntéze pigmentu nebo obojí (Rieder et al., 2001).

Skutečnost, že melanokortinový systém peiotropně reguluje různé fenotypové vlastnosti, nabízí vysvětlení asociací, které byly opakovaně pozorovány u různých obratlovců. Mezi tyto vlastnosti patří zbarvení, fyziologické a morfologické znaky (San – Jose et al., 2016).

Geny kontrolující barvu srsti mají u mnoha druhů vliv také na chování. Například změny stresové reakce byly prokázány u lišek. Agresivita je spojena se zrzavým zbarvením španělských kokršpanělů. Napříč různými druhy, jedinci se ztrátou „vypínací“ funkce ASIP bývají klidnější a mají méně stresovou odpověď na podněty. U lidí bylo zjištěno, že ženy s červenými vlasy měly větší analgetickou reakci na některé opiátové drogy (Jacobs et al., 2016).

Domestikace je složitý proces, který zahrnuje mimo jiných změn také genetickou modifikaci druhu přímou selekcí. To zahrnuje modifikaci fenotypu a genotypu. Divoké druhy jsou rovnoměrně barevné a různé barvy a vzory jsou také u domácích zvířat (Daverio et al., 2016). Domestikace podporuje vznik nových fenotypových a behaviorálních vlastností u domácích zvířat ve srovnání s jejich divokými předky (Canu et al., 2016).

3.1.1 Melanogeneze

Melaninové pigmenty vznikají v melanocytech procesem zvaným melanogeneze. Melanocyty ontogeneticky vznikají z neurální lišty. Vyskytují se tedy pouze u živočichů s neurální lištou, to znamená u obratlovců (Vertebrata) (Duval et al., 2002). U plazů se vyskytují dva typy pigmentových buněk obsahujících melanin: melanocyty a melanofory (Cox et al., 2013). U ryb bylo objeveno šest typů pigmentových buněk: melanofory, xanthofory, erythrofony, leukofory, cyanofory a iridofory (Henning et al., 2010).

Melanogeneze je pod komplexní regulační kontrolou ze strany několika agentů interagujících přes dráhy aktivovaných mechanismů receptorů závislých či nezávislých na hormonální, autokrinní, parakrinní a interkrinní tvorbě. Nejdůležitější pozitivní regulátor melanogeneze je melanokortin 1 receptor se svými ligandy a adrenokortikotropním hormonem (Slominski et al., 2004).

Melaninové pigmenty vzniklé melanogenezí se hromadí v melanosomech, které se stěhují podle exostózy do chlupů v průběhu jejich růstu (Russo et al., 2009).

S ohledem na pokožku jako stresový orgán slouží melanogeneze jako unikátní molekulární snímač a převodník škodlivých signálů a jako regulátor místní homeostázy. V souvislosti s těmito rolemi je melanogeneze řízena vysoce strukturovaným systémem, který je aktivní od počátku embryogeneze a je schopen superselektivní funkční regulace, která může dosáhnout až na buněčnou úroveň. Ve skutečnosti význam melanogeneze přesahuje pouhé přiřazení barevného znaku.

Při zvažování funkce melanogeneze je pochopitelné, že do její regulace a doladování je zapojeno nespočet hormonů a molekulárních faktorů. Komplex regulační kontroly zahrnuje hormony, neurotransmitery, cytosiny, růstové faktory, mechanismy aktivované nebo upravené živinami, stopové prvky, pH, kationty a anionty a oxidační potenciál prostředí. Rozpustné faktory mohou dosáhnout jejich cíl z oběhu nervovými zakončeními. A mohou působit jako pozitivní či negativní regulátory melanogeneze. Jak už bylo výše řečeno, nejdůležitější regulátor je MC1R se svými ligandy a ACTH (Slominski et al., 2004).

3.1.1.1 Melanin

Melaniny jsou koncové produkty komplexní vícestupňové transformace L – tyrosinu. Jsou to polymorfní a multifunkční biopolymery reprezentované eumelaninem, feomelaninem, neuromelaninem a smíšenými melaninovými pigmenty.

Melaninové pigmenty mají společné uspořádání pomocí uhlíkové vazby, ale liší se od sebe v chemickém složení a také strukturálními a fyzikálními vlastnostmi (Slominski et al., 2004). U zvířat jsou 2 hlavní třídy melaninových pigmentů, eumelanin a feomelanin (Fontanesi et al., 2006). Klasifikace těchto pigmentů závisí zejména na barvě, rozpustnosti a obsahu síry v izolovaném melaninu (Ito and Jimbow, 1983).

Eumelaniny jsou polymorfní dusíkaté biopolymery pevně spojené s proteiny pomocí kovalentní vazby (Slominski et al., 2004). Eumelanin je tmavě hnědý až černý, nerozpustný v kyselinách a zásadách a obsahuje dusík (6 – 9%), ale neobsahuje síru (0 – 1%). Skládá se zejména z monomerních jednotek 5,6 – dihydroxyindolu a 5,6 – dihydroxyindol – 2 – karboxylové kyseliny (Ito and Jimbow, 1983).

Na rozdíl od eumelaninu, feomelanin má hlavní řetězec z benzothiazinové jednotky a vykazuje žluté až červenohnědé zbarvení (Slominski et al., 2004). Je rozpustný v zásadách a obsahuje dusík (8 – 11%) i síru (9 – 12%). Skládá se z jednotek dioxidu odvozených z cysteinyldopů (Ito and Jimbow, 1983).

Neuromelaniny jsou složeny z makropolymerů a mají hnědý až černý pigment (Slominski et al., 2004).

3.1.1.2 Produkce melaninu

Za fyziologických podmínek je syntéza melaninu v melanocytech omezena na melanosomy a jejich enzymatické a konstrukční prvky jsou organizovány a sestaveny odděleně. Vývoj melanosomu zahrnuje čtyři kroky. Stupeň I odpovídá brzké matrix organizaci. Ve stupni II je matrix organizovaný, ale bez tvorby melaninu (eumelanosom), v feomelanosomu je již melanin vytvořen. Ve fázi III se melanin ukládá. Ve IV. fázi jsou melanosomy zcela melanizované (plné melaninu). Neexistuje žádný důkaz o rozdílu mezi folikulárními a epidermálními melanosomy (Slominski et al., 2004).

Existuje šest melanokortinových genů (POMC, PCSK2, PCSK5, AGRP, ASIP a MC1R) a devět genů spojených s melanogenezí (CREB1, MITF, KIT, SLC45A2, SLC7A11, DCT, OCA2, Tyr a TYRP1), které se podílejí na regulaci a syntéze melaninu (San – Jose et al., 2016).

3.1.1.3 Rozšíření melaninu

V černých chlupových folikulech je největší počet melanocytů. U hnědých chlupů je jich poněkud méně. U světlých jsou chudě rozmístěné. Červené chlupy mají melanin uložený nepravidelně se skvrnami. Zbarvení je regulováno geny s pleiotropním účinkem. Je zajímavé, že feomelanosom i eumelanosom mohou existovat ve stejném těle, ale ne stejnou cestou (Slominski et al., 2004).

Relativní rozšíření pigmentů produkovaných v melanocytech se řídí v první řadě dvěma lokusy, *Extension* a *Agouti*. Lokus *E* epistaticky interaguje s lokusem *A*, což znamená, že ho potlačuje (Russo et al., 2009). Lokus *Agouti* kóduje *agouti* signální peptid (Fontanesi et al., 2010a). Lokus *E* kóduje receptor melanocyty stimulujícího hormonu (MSHR) nebo melanokortin 1 receptor (MC1R). Klasické genetické studie (Fontanesi et al., 2006; Kijas et al., 1998; Kerns et al., 2003) ukázaly, že dominantní alely v lokusu *Extension* jsou spojeny s černou barvou srsti, zatímco recesivní alely v tomto lokusu způsobují červené/žluté zbarvení srsti.

3.2 MC1R

GPCR neboli G proteinové receptory jsou jednou z největších proteinových superskupin. Skupina melanokortinových receptorů (MC) patří do třídy A GPCR a skládá se z pěti podtypů receptorů MC – MC1R, MC2R, MC3R, MC4R a MC5R (Rinken et al., 2016; Fridmanis et al., 2017).

Melanokortiny jsou produkovány zpracováním posttranskripčního propiomelanokortinového prekursoru (POMC) a obsahují stimulační hormony (α - β - γ - MSH) a adrenokortikotropní hormon neboli ACTH (Sánchez et al., 2010).

MC2R neboli ACTHR je selektivně aktivován adrenokortikotropním hormonem. Mutace v MC2R může vést k nedostatku některých glukokortikoidů (Fridmanis et al., 2017). Polymorfismy v rámci lidské MC3R byly spojeny s obezitou (Aris et al., 2015). Rinken et al. (2016) zjistili, že MC4R hraje důležitou roli při regulaci potravy, ale také reguluje erektilní funkce a sexuální chování. Na MC5R je závislá regulační imunita (Lee et al., 2016).

MC1R je protein se sedmi transmembránovými doménami. Je spojený s proteinem G a váže α melanocyty stimulační hormon (α - MSH) vyvolávající syntézu eumelaninu (Fontanesi et al., 2009).

MC1R je klíčovým regulátorem savčí pigmentace (McRobie et al., 2014). U savců je MC1R vyjádřena zejména v chlupovém folikulu a kožních melanocytech. Gen byl objeven také v keranocytech, buňkách imunitního systému, v mozku, Leydigových buňkách varlat a ve vaječnicích (Selz et al., 2007). MC1R hraje významnou roli v regulaci melaninu a feomelaninu syntézou v savčích melanocytech. Je zakódován na lokusu E (Kijas et al., 1998).

MC1R je spojen s adenylátcyklázami a jeho aktivace způsobuje akumulaci cAMP a podporuje eumelanin místo syntézy feomelaninu. Agouti protein inhibuje MC1R, proto produkce proteinu způsobí, že melanocyty produkují feomelanin místo eumelaninu (Kerns et al., 2003).

MC1R je aktivován také jeho agonistou α – melanocyty stimulačním hormonem (α – MSH). Je to malý peptid vylučovaný hypofýzou, kde se odštěpí od prekursoru pro – opiomelanokortinu (POMC). Tento peptid je také produkován keratinocyty v epidermis. Aktivita MC1R vede ke zvýšení úrovně cAMP. Vysoká hladina cAMP vede k několika signalizačním kaskádovým změnám. Intracelulární hladiny cAMP jsou klíčovým prvkem při určování přechodu z eumelaninu na výrobu feomelaninu. Základní hladiny cAMP z nestimulovaných receptorů jsou dostatečné pro stimulaci exprese genu kódujícího tyrosinasy, což je enzym omezující rychlost potřebnou pro výrobu eumelaninu i feomelaninu.

Nižší úroveň cAMP vede ke snížení exprese genů kódujících TRP – 1 a DCT, které jsou zapotřebí pro eumelanogenezi, ale nejsou zapotřebí pro feomelanogenezi. Zvýšení hladiny cAMP může způsobit zvýšenou eumelanogenezi (McRobie et al., 2014).

ASIP je produkovaný papilární linií buněk, kde působí parakrinně na folikulárních melanocytech. U lidí a myší působí vysokou afinitou jako inverzní agonista MC1R. Inaktivace receptoru vede k poklesu hladiny cAMP a přechodu na feomelanogenezi a nakonec k zastavení výroby pigmentu. Tímto způsobem ASIP a MC1R určují jaký typ melaninu je syntetizován (McRobie et al., 2014). U některých druhů dominantní ASIP alela A produkuje žlutou/červenou barvu, zatímco recesivní alela a je odpovědná za černou barvu (Daverio et al., 2016).

Signalizace melanokortinu je také regulována přirozeně se vyskytujícími antagonisty. Agouti protein (AGRP) je silný antagonist MC1R a MC4R (Sánchez et al., 2010; Ollmann et al., 1998). AGRP je vyráběn zejména v hypotalamu a nadledvinkách. Silně inhibuje melanokortikonovou signalizace MC3R a MC4R, ale není aktivní při MC1R (Sánchez et al., 2010).

MC1R poskytuje vazebné místo pro Agouti protein, který může být blokován α – MSH. To silně naznačuje, že protein Agouti je ligand pro MC1R. Vzájemně se vylučující vazba Agouti proteinu a α – MSH na MC1R je v souladu s modelem kompetitivního antagonismu, nicméně pozorování ukázaly, že Agouti protein má účinky nad rámec pouhé inhibice vazby α – MSH. To naznačuje, že Agouti protein nejen inhibuje vazbu antagonistů, ale také mění interakci MC1R (Ollmann et al., 1998).

MC1R je vyjádřen nejen melanocytech péřových pupenů a chlupových folikulů, ale také v různých buňkách imunitního systému jako jsou monocyty, makrofágy, neutrofilů, B – lymfocyty nebo NK buňky. MC1R má vliv nejen na zbarvení, ale také na imunologické procesy. Z toho vyplývá, že různě zbarvení jedinci se mohou lišit odpovědí zprostředkovanou buňkami (Gangoso et al., 2011). Je to způsobeno pleiotropiím účinkem genu, který ovlivňuje nejen pigmentaci, ale také chování, morfologii a fyziologii včetně imunitního systému (Emaresi et al., 2013).

Řada mutací na MC1R je spojena s melanismem (McRobie et al., 2014). Mutace MC1R způsobí změnu pigmentu u různých druhů zvířat včetně skotu, koní, lišek a kuřat (Kijas et al., 1998). Mutace způsobující hyperaktivitu nebo neaktivitu receptorů může mít za následek zatemnění (malnizace) nebo zblednutí srsti (Sánchez et al., 2010).

3.3 Význam MC1R ve fylogenezi

Cetartiodactyla, skupina složená z kytovců a sudokopytníků, zahrnuje téměř 300 druhů. Tato skupina zahrnuje některé z nejdůležitějších domácích zvířat (skot, vodní buvol, prase, koza, ovce, velbloud, alpaka), stejně jako mnoho ohrožených druhů.

Tyto druhy se značně liší ve zbarvení. Barevné znaky byly použity v rozsáhlých srovnávacích analýzách (Agnarsson and May – Collado, 2008; Stoner et al., 2003). Bylo zjištěno, že například sudokopytníci obývající otevřené nebo pouštní prostředí jsou s největší pravděpodobností spíše světlejšího zbarvení. Naproti tomu tmavé zbarvení je významně spojeno s životem v tropech nebo hustém lese. Je pravděpodobné, že zbarvení je důležité pro maskování, ale může být důležité také pro komunikaci a termoregulaci. Vnitrodruhové studie naznačují, že MC1R může být terčem pozitivní Darwinovy selekce.

MC1R prošel silnou selekcí v průběhu vývoje skupiny cetartiodactyla. Příležitostné náhrady aminokyselin přinesly dramatické účinky na zbarvení domácích zvířat. Bylo zjištěno, že MC1R je velký fylogenetický nástroj. MC1R umožňuje rekonstrukci vztahů mezi vzdáleně příbuznými druhy. Podrobné zkoumání MC1R pravděpodobně zlepší fylogenetické rozlišení savčího stromu života a potenciálně pomůže při pochopení úlohy MC1R v evoluci pigmentace (Ayoub et al., 2009).

3.4 Zbarvení

3.4.1 Divoké zbarvení

Kijas et al. (1998) se domnívají, že gen MC1R je důležitý pro vyjádření barvy srsti divokého typu. Nejlépe studovaným druhem je myš, u které byly eumelanin a feomelanin identifikovány a charakterizovány. Divoké zbarvení u mnoha druhů souvisí se syntézou obou typů melaninu. Nicméně mutace na lokusech Extension a Agouti může podmínit melanocyty k syntéze jednoho pigmentu. U evropských prasat byla objevena unikátní alela E^1 vedoucí k divokému zbarvení.

Cyklické „zapínání“ a „vypínání“ MC1R pomocí ASIP je potřebné k tvorbě proužků, což je přirozené pro agouti zbarvení. Divoký typ agouti produkuje chloupky, které jsou černé na špičkách a základně, ale obsahují žlutý střed. Tento střed odpovídá přechodu z eumelaninu na feomelanin (McRobie et al., 2014).

3.4.2 Bílé zbarvení

Za bílé zbarvení je zodpovědná dominantní alela KIT. U prasat plně dominantní alela KIT způsobuje bílé zbarvení těla (Xu et al., 2006). Dalším genem způsobující bílé zbarvení je gen PMEL. To bylo potvrzeno u kuřat, která nesla mutaci na genu PMEL a byla bílého zbarvení (Schmutz and Dreger, 2013).

3.4.3 Černé zbarvení

U různých druhů savců dominantní alely na lokusu E způsobují dominantní černé zbarvení (Kijas et al., 1998). U plemen domácích prasat byly odhaleny dva různé typy alel pro černé zbarvení – E^{D1} a E^{D2} (Koutsogiannouli et al., 2010).

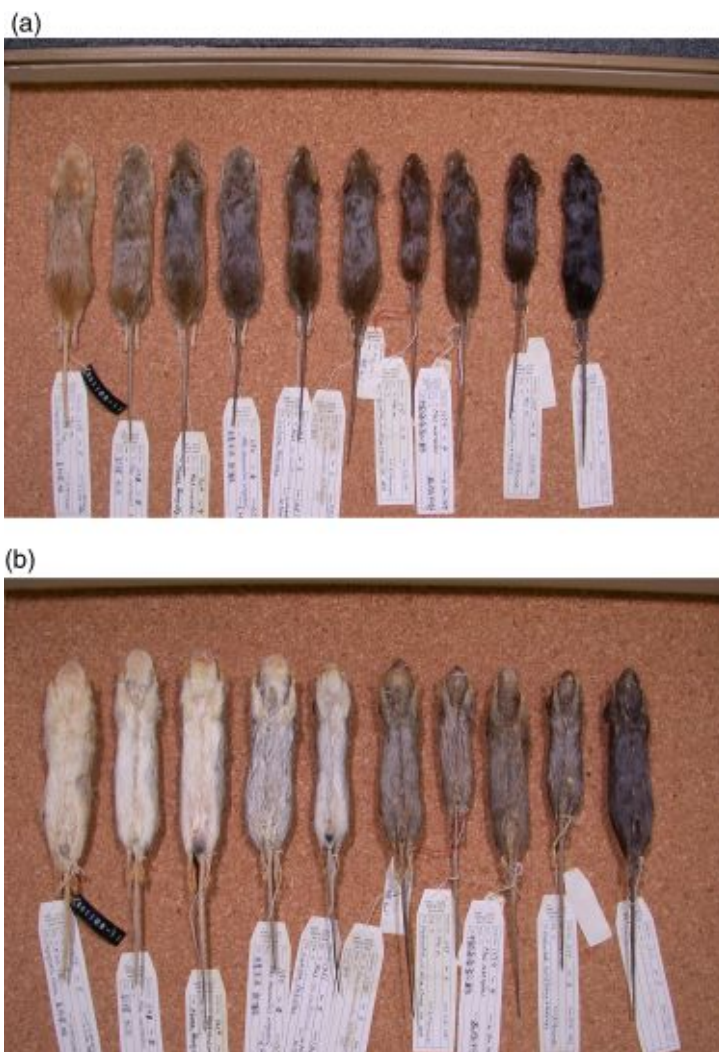
3.4.4 Červené zbarvení

Červené zbarvení je u zvířat obecně spojeno s recesivní alelou e (Fontanesi et al., 2006)

3.5 MC1R u vybraných druhů zvířat

3.5.1 Myš domácí (*Mus musculus*)

Mus musculus Linnaeus, 1758 pochází s jihozápadní Asie a rozšířila se do všech koutů Euroasie s přítomností lidské populace. Tento druh je známý modelový organismus a velký počet populací s různým geografickým původem a různým genetickým pozadím se používá pro biomedicínský výzkum. Divoké populace myši s jejich mimořádnou genetickou rozmanitostí a rozmanitostí geografických skupin je také ideálním předmětem pro studie o evoluční biologii, ve které je přirozený výběr jedním z hlavních problémů (Kodama et al., 2015). Za poslední padesát let bylo objeveno velké množství genů myšního zbarvení, které se ukázaly být cenným zdrojem pro identifikaci a studium obecných aspektů buněčné biologie. Dvěma takovými geny jsou MC1R a ASIP (Ollmann et al., 1998)



Obrázek č. 1: Reprezentativní variace zbarvení u divoce žijící myši domácí *Mus musculus*; (a) – populace z vlhčí oblasti, (b) – populace ze sušší oblasti (Lai et al., 2008)

U myši žijících ve volné přírodě platí Glogerovo pravidlo, které říká, že tmavší jedinci se pohybují ve vlhčím prostředí, zatímco světlejší v sušších oblastech. Zbarvení divoké populace myši se pohybuje od bílé až po černou.

Nicméně přirozené populace myši domácí mají mnohem menší variaci zbarvení než laboratorní populace. Je vysoce nepravděpodobné, že by některé ze zbarvení uměle vytvořeného v laboratoři bylo viděno ve volné přírodě. Mezi tato zbarvení patří tečkované zbarvení, naprostý nedostatek pigmentu, strakaté zbarvení a albín. To může být způsobeno tím, že šance zachování smrtící nebo peiotropně škodlivé alely ve volné přírodě je mizivá. Navíc mnoho mutací, které byly pozorovány u laboratorních myši, vznikly spontánně v přírodních podmínkách (Lai et al., 2008).

Kodama et al. (2015) hodnotili stav genetické struktury, což vedlo k současnému výskytu tří hlavních skupin poddruhů: severní Eurasie (MUS), jižní Asie (CAS) a nejzápadnější Eurasie (DOM). Studie zdůrazňuje složitost fylogenetických vztahů uvnitř skupiny poddruhů. Strukturní analýza dále navrhla dělení CAS do dvou skupin označených jako CAS – I a CAS – II. Vědci zjistili, že přírodní výběr jednal na genu MC1R nebo v přilehlé oblasti u populací CAS a DOM. To znamená, že náhrada aminokyseliny v MC1R mění barvu srsti.

Výsledek syntézy melaninu významně koreluje s množstvím srážek. Tmavě zbarvení jedinci byli pozorováni ve více vlhkých biotopech a světlejší v sušších stanovištích. Změny aminokyselin v MC1R jsou spojeny s adaptací barvy fenotypu, která slouží jako kamufláž proti světlým písečným dunám.

Je pravděpodobné, že MC1R souvisí s regulací i jiných biologických procesů. Některé myši se žlutým zbarvením se narodily mrtvé. Jiné myši s letální žlutou alelou měli sklony k obezitě, odporu k inzulínu, neplodnosti, zvýšené délce těla a zvýšené citlivosti k nádorům. To by mělo být způsobeno mutací na MC1R (Ollmann et al., 1998).

3.5.2 Prasata

3.5.2.1 Divoká prasata

U divokých a domácích prasat je MC1R dobře prostudována na molekulární úrovni (Koutsogiannouli et al., 2010). U divokých prasat byly objeveny tři typy alely **E** – **E^D**, **E^P** a **e** (Kijas et al., 1998). Kde **E** je dominantní nad **E^P** a recesivní **e**. Mezi zkoumanými zvířaty byly různé barevné fenotypy. Kijas et al. (1998) zjistili, že evropská prasata (*Sus scrofa scrofa*

Linnaeus, 1758) mají unikátní MC1R E alelu, která je nezbytná pro divoký typ zbarvení srsti. Výsledky tohoto fenotypu se jeví jako variabilní odstíny hnědé. To zahrnuje také podélné pruhy u mladých zvířat. Alela byla označena E^1 , což znamená, že se jedná o divokou formu. Sekvencování MC1R také odhalilo dva různé typy alely pro černé zbarvení, které byly označeny jako E^{D1} (přítomny u plemene meishan) a E^{D2} (přítomny v chovu plemene hampshire). Alela e se ukázala být spojena s červeně zbarvenými zvířaty. Divoké zbarvení spojené s MC1R nebylo nalezeno u žádného ze studovaných domácích plemen. To je ve shodě s později dosaženými výsledky (Koutsogiannouli et al., 2010).

Dun et al. (2007) uvádí, že čínská divoká prasata (*Sus scrofa moupinensis* Milne – Edwards, 1871) nesou dominantní černou alelu MC1R ve vysoké frekvenci. Analýza rodokmenu potvrdila, že E^{D1} alela je dominantní nad alelami E^P a e. Alela E^P je neúplně dominantní nad alelou e.

Studie Koutsogiannouli et al. (2010) odhalila hybridy mezi divokými a domácími plemeny prasat. Vysoké procento hybridů (16,7%) bylo zjištěno v chovné stanici na rozdíl od hybridů volně se pohybujících divokých prasat (5,0%). Linderholm et al. (2016) zkoumali alelickou variaci MC1R a zbarvení srsti divokých a domácích prasat v Eurasii a prokázali, že všechny haplotypy nalezené v populacích divokých prasat v Eurasii jsou rozlišeny pouze synonymní mutací, což je mutace, která nezpůsobuje záměnu aminokyselin. Oproti tomu prakticky všechny mutace u domácích prasat jsou nesynonymní, což znamená, že dojde ke změně aminokyseliny.

Canu et al. (2016) analyzovali variace MC1R v evropské populaci divokých prasat. Dva lokusy byly pod silným umělým výběrem v průběhu domestikace. Tyto lokusy mají vliv na barvu srsti a počet obratlů. Většina jedinců (94%) měla homozygotní alelu divokého typu (E^+). Zbývající divoká prasata (6%) vykazovala genetickou introgresi ze tří různých evropských domácích alel. V žádném vzorku nebyla nalezena asijská MC1R alela. Navíc 6% zvířat disponovalo domácí alelou NR6A1.

Asijské kančí populace vykazují vysokou diverzitu. Alela MC1R divokého typu má 14 variant, ve kterých se vyskytují pouze synonymní substituce. U evropských prasat dosud nebyl zjištěn žádný polymorfismus divokého typu. To může být způsobeno nedostatkem informací, jelikož vzorky nezahrnovaly populaci žijící v oblasti jižních ostrovů, kde jsou divoká prasata s vysokou diverzitou.

3.5.2.2 Domáci prasata

Prase domácí (*Sus scrofa domestici* Linnaeus, 1758) je domestikovaná forma prasete divokého (Koutsogiannouli et al., 2010). MC1R je jedním z genů, které ovlivňují barvu srsti u domácích prasat (Xu et al., 2006). Jednotlivá plemena se liší ve výskytu alel a také ve fenotypu.

Plemeno	maishan	hampshire	landrace, yorkshire, pietrain	duroc
Alela	E^{D1}/E^{D1}	E^{D2}/E^{D2}	E^P/E^P	e/e
Fenotyp	černý	černý	bílý/bílý s černými znaky	červený

Tabulka č. 1: Výskyt alelických variant u některých plemen domácích prasat (Dun et al., 2007)

V chovu prasat byl popsán také fenotypový efekt alely **e^J** způsobující strakaté žlutočerné zbarvení (Fontanesi et al., 2006).

MC1R byla studována zejména pro zjišťování čistoty produktů označených jako získaných ze zvláštních plemen (Koutsogiannouli et al., 2010).

3.5.3 Tur domácí (*Bos primigenius* f. *taurus*)

Maudet et al. (2002) sekventovali čtyři geny ovlivňující barvu srsti u skotu (*Bos primigenius* f. *taurus* Linnaeus, 1758): C – kit, MGF, TYRP1 a také MC1R. MC1R je mapován na chromozomu 18 a jako jediný ukázal variaci mezi plemeny (Yang et al., 2014). Ukázalo se, že nejdůležitější je lukus E. Kombinace analýz PCR – RFLP a PCR – AFLP rozlišuje 3 hlavní alely u skotu: **E^D**, **E⁺** a **e**. Alela **E^D** způsobuje černou barvu srsti a vyskytuje se například u plemene aberdeen angus. Alela **E⁺** je divoký typ alely, která způsobí fenotyp podobný původnímu divokému zbarvení pratura. Toto zbarvení můžeme najít u plemen jersey a brown swiss. Alela **e** způsobuje červenou barvu srsti a byla identifikována u plemen hereford, red angus a simental (Russo et al., 2009).

Zhang et al. (2014) zkoumali deset plemen zastupujících pět geografických oblastí (severní, střední, jižní a jihozápadní Čína a Bangladéš) a různé druhy (*Bos taurus* Linnaeus, 1758, *Bos indicus* Linnaeus, 1758) a hybridy. Bylo odhaleno 20 polymorfismů (jedna delece,

šest synonymních substitucí a 13 ztrátových substitucí). Tyto polymorfismy jsou definovány u 18 různých haplotypů. Ukázalo se, že **E** a **E⁺** jsou hlavními haplotypy u plemen ze severní nebo centrální Číny. Haplotypy definované jako c.416C>T, c.583C>T a C.890T>C se většinou vyskytují u zvířat v jižní a jihozápadní Číně a Bangladéši.

U skotského náhorního skotu se vyskytuje šest základních barev: černá, šedá, stříbřitě šedá, červená, žlutá a bílá. Těchto šest zbarvení je vysvětleno non – epistatickou interakcí genotypu v genech MC1R a PMEL (Schmutz and Dreger, 2013).

3.5.4 Ovce domácí (*Ovis orientalis aries*)

Na barvu ovcí (*Ovis orientalis aries* Linnaeus, 1758) mají vliv dva lokusy: Agouti a Extension kódující agouti signalizující protein (ASIP) a melanokortin 1 receptor (MC1R) v daném pořadí (Fontanesi et al., 2011). Fontanessi et al. (2010) zjistili přítomnost dvou alel na lokusu Extension u ovcí. Alela **E^D** (dominantní černá), která může odpovídat za černou barvu některých plemen. A alela **E⁺**, což je alela divokého typu, která je rozdělena ve většině plemen. Na rozdíl od jiných druhů, recesivní alela **e** na lokusu Extension nebyla u ovcí zatím jasně dokumentována. Tři mutace v MC1R způsobují dominantní černou **E^D** alelu a recesivní **e** alelu. Na lokusu Agouti bylo u ovcí popsáno asi 20 alel.

Massese je italské mléčné plemeno ovce, které se vyznačuje černě zbarvenou kůží, rohy a černou nebo šedou vlnou. Vzhledem k přítomnosti těchto dvou typů zbarvení srsti lze toho plemeno považovat za zajímavý model pro hodnocení účinku genových polymorfismů na barvu srsti (Fontanesi et al., 2011).

Fontanesi et al. (2010) zjistili pět jednonukleotidových polymorfismů rozdělených do čtyř haplotypů. Haplotypy 1 a 3 jsou považovány za alely divokého typu lokusu Extension. Jsou přítomny ve většině analyzovaných plemen.

Souvislost mezi MC1R polymorfismy a barvou srsti může být vyhodnocena v rámci plemene nebo několika plemen s různou barvou fenotypu.

Pokud jsou přítomny skvrny (což znamená přítomnost melanocytů v těchto oblastech), mohlo by to znamenat, že různé mutace jsou spojeny s přítomností eumelanických nebo feomelanických barev. Analýza odhalila dvě ztrátové mutace způsobující dominantní černou alelu u norského plemene dala. Přítomnost těchto dvou mutací byla pozorována i u jiných plemen ovcí: corriedale, damara, black merino, black castellana a karakul. Podle fenotypu pozorovaného u jiných druhů, které mají stejné dvě zmutované pozice, se dá předpokládat, že by některá z těchto dvou mutací mohla být postačující ke konstitutivní syntéze eumelaninu.

Zdá se nepravděpodobné, že by další regulační mutace v haplotypu 3 mohla mít vliv na barvu srsti, protože haplotyp byl přítomen u různých plemen lišících se barvou srsti.

Fontanesi et al. (2011) dokázali, že MC1R není obecně nejdůležitějším faktorem, který geneticky určuje barvu srsti ovcí (alespoň u analyzovaných italských plemen). Mutace genu ASIP se zdá mít větší vliv na barvu srsti. Kromě toho jsou do procesu zapojeny také další lokusy. To je ve shodě s dříve dosaženými výsledky (Fontanesi et al., 2010a).

3.5.5 Koza domácí (*Capra aegagrus hircus*)

Podle studií Fontanesi et al. (2009) se zdá, že alespoň u některých plemen koz (*Capra aegagrus hircus* Linnaeus, 1758) jsou mechanismy určení zbarvení srsti podobné těm, které již byly popsány u jiných druhů. U koz se nejčastěji vyskytuje bílé, hnědé, šedé a černé zbarvení.

Celá kódující oblast genu MC1R byla skenována u koz šesti různých plemen různého zbarvení. Bylo určeno pět jednonukleotidových polymorfismů (SNP), jedna nesmyslná mutace, tři ztrátové mutace a jedna tichá mutace.

Výsledky naznačují, že mutace identifikované v genu MC1R jsou spojeny s černým a červeným zbarvením srsti. To však neplatí u všech plemen, což naznačuje, že je zde mnoho dalších důležitých genetických faktorů.

3.5.6 Kůň domácí (*Equus ferus caballus*)

Nejvýznamnější zbarvení u koní (*Equus ferus caballus* Linnaeus, 1758) jsou: ryzák, hnědák a vraník. Zbarvení hnědáků, ryzáků a vraníků je řízeno lokusy ASIP (A) a MC1R (E). Genotyp hnědáků je **A_E_**, vraníků **aaE_** a ryzáků **_ee**. Hnědáci a vraníci se nazývají eumalaničtí díky alele **E** produkující eumalnin. Ryzáci feomelaničtí, protože mají v srsti pouze feomelanin (Stachurska and Brodacki, 2008).

Plemena koní obvykle vykazují obrovskou škálu barev srsti. Nicméně některá plemena jsou známá pro jejich zbarvení, což naznačuje, že koně jsou v tomto znaku homozygotní. Například fríský kůň je považován za vrané plemeno, ale s nízkou frekvencí se vyskytuje i alela **E^e** způsobující ryzé zbarvení. To je způsobeno substitucí v MC1R. Tuto substituci způsobí mutace v pozici C301T. Žádná jiná mutace nebyla u koní pozorována (Rieder et al., 2001).

Jacobs et al. (2016) zjistili, že existuje asociace mezi genem ASIP a temperamentem, což může ovlivnit komunikaci lidí s koňmi. Podle studie je černá klisna s genotypem **aa** více soběstačná a vhodná do osamělejších situací než hnědák s genotypem **A_**. Podobné účinky byly popsány u myši a krys a souvisí zjevně s menší velikostí nadledvin a tudíž se sníženou produkcí hormonů nadledvin.

Stachurska and Brodacki (2008) provedli studii, která měla ověřit hypotézu, že barva srsti je považována při výběru populace polských plnokrevných koní. Formálně není barva kritériem výběru u tohoto plemene. Je vybíráno především pro rychlost. Nicméně chovatelé často preferují určitou barvu a věří, že jednotlivé barvy mohou souviset s lepšími nebo horšími výsledky.

Frekvence alel **A**, **E** byla odhadnuta od frekvence fenotypů. Z celkového počtu bylo 71,0% hnědáků, 22,7% ryzáků a 1,8% vráných hříbat ze všech potomků. Zvýšení počtu hnědých zvířat šlo ruku v ruce s poklesem ryzích hříbat a naopak. Obecně platí, že recesivní alely **a** a **e** vykazovaly mírný pokles frekvence.

Zbarvení srsti u plnokrevníků se nevztahuje k jejich závodnímu výkonu, což je nejdůležitější vlastnost pro toto plemeno a proto by neměla být brána v úvahu při výběru. Nicméně výsledky studie ukazují, že zbarvení srsti není zcela vynecháno v plemenitbě polské populace plnokrevníků (Stachurska and Brodacki, 2008).

3.5.7 Králík domácí (*Oryctolagus cuniculus* f. *domesticus*)

Králíci (*Oryctolagus cuniculus* f. *domesticus* Linnaeus, 1758) disponují pěti alelami na lokusu Extention: **E^D** (dominantní černá), **E^S** (ocel, slabší verze **E^D**), **E** (divoký typ, běžně rozšířená černá), **e^J** (japonské žihání, mozaika černé a žluté) a **e** (žlutá / červená s bílým břichem). Nedávno byly identifikovány dvě delece spojené s dominantní černou a recesivní červenou. Pořadí dominance je následující: **E^D** > **E^S** > **E** > **e^J** > **e** (Fontanesi et al., 2006).

Bylo by možné předpokládat existenci pouze jedné dominantní černé alely a přítomnost modifikátoru genu by mohla být příčinou různých intenzit černé. Recesivní delece eliminuje deset aminokyselin první extracelulární kličky a byla v homozygotním stavu u všech žlutých/červených králíčích plemen a kmenů (burgundy, fawn, gold saxony, new zealand red, durinských plemen a u zvířat ostatních plemen, u kterých není pevně stanovena barva srsti).

Zbývá charakterizovat **e^J** alelu. Japonské žihání bylo pravděpodobně objeveno ve Francii během druhé poloviny 19. století a následně bylo představeno v Anglii a dalších

zemích. Toto zbarvení může být definováno jako žluté strakaté s černou. Zjevně je způsobeno přítomností dvou typů melanocytů. Jeden produkuje eumelanin, druhý feomelanin. Alela e^J se vyskytuje u plemen japonska a rhienelander. Strakatý fenotyp je podobný želvovinovému vzoru u samic koček a syrských křečků.

Plemeno králíka rhienelander má trikolorový vzor, který je černý, žlutý s bílými místy. Bílé oblasti jsou způsobeny absencí zralých melanocytů (Fontanesi et al., 2010b).

3.5.8 Pes domácí (*Canis lupus familiaris*)

Pes domácí (*Canis lupus familiaris* Linnaeus, 1758) vykazuje různé barvy srsti, které zahrnují širokou škálu variací mezi různými plemeny. Je toho známo hodně o molekulární biologii pigmentace psa. Aktuální pochopení je založeno převážně na tradičních experimentálních chovech. V některých případech se navrhované genetické interakce liší od těch, které byly pozorovány u jiných savců.

Byla potvrzena přítomnost šesti genů, které určují specifickou barvu srsti: MC1R, TYPR1, ASIP, MLPH, SILV a MITF (Kerns et al., 2003).

Brockerville et al. (2013) zjistili, že i další gen, CBD103, se podílí na tvorbě eumelaninu u domácích psů a jejich divokých předků, vlků. Mutace genů MC1R, ASIP a CBD103 může mít vliv na zbarvení srsti u domácích psů (Wang et al., 2013).

Gen CBD103 je také znám jako lokus K. MC1R je epistatický k CBD103 a ASIP. Psi nesoucí dominantní alelu CBD103 mají černé zbarvení. CBD103 kóduje protein b – defensin, který s delecí amino 23 kompetitivně váže MC1R a to i přítomnosti funkčního Agouti, což vede k dominantnímu černému zbarvení srsti (vztaženo na alelu K^B). Psi s divokým typem CBD103 alely K^Y jsou žlutí a to dokonce v přítomnosti funkčního MC1R (Brockerville et al., 2013).

Kerns et al. (2003) studovali molekulární genetiku dominantní černé. Identifikovalo se několik kódujících polymorfismů v rámci MC1R.

Fenotypová rozmanitost, včetně velikosti těla a barvy srsti, ve srovnání mezi domácími psi a jejich divokými předky je ohromující. Velmi různorodé zbarvení srsti nalezené u psích plemen je dobrým příkladem pro odhalení síly umělého výběru, kde selekce odpovídala lidským potřebám a vyústila k silnému umělému výběru.

Wang et al. (2013) zkoumali populace kunmingského psího plemena. Kunmingské psí plemeno bylo původně vyvinuto křížením místních psů a pracovních psů, jako je například německý ovčák. Tento hybrid má dvě stabilní populace: vlčí černou (WB) a černou černou

(BB), které byly odvozeny od kunningského psa v průběhu posledních šestnácti let. WB psi mají černou a žlutou po celém těle, zatímco psi BB populace mají černá záda a žluté břicho a končetiny. Bylo zjištěno, že mezi populacemi je rozdíl na lokusu MC1R. U žádného ze zkoumaných psů se nevyskytovalo černé zbarvení. Vysoká heterozygotita na MC1R lokusu je v souladu se směsí černého a žlutého zbarvení srsti u tohoto psiho plemena. M3 byl hlavní haplotyp u WB populace, zatímco M1 byl hlavní haplotyp u BB populace. Výsledky studií naznačují, že MC1R odpovídá za barevný rozdíl ve zbarvení mezi těmito dvěma populacemi.

U MC1R lokusu byly identifikovány čtyři mutace, z nichž dvě mají spojení s konkrétní barvou srsti.

Například mutace Arg306Tyr způsobuje červené nebo žluté zbarvení celého těla u irských setrů, žluté zbarvení labradorských retrívrů a zlatých retrívrů (Jakubczak et al., 2016).

3.5.9 Kojot (*Canis latrans*)

Rychlá kolonizace kojota (*Canis latrans* Say, 1823) ve východní části Severní Ameriky usnadňuje zánik klíčového konkurenta – vlka (*Canis lupus* Linnaeus, 1758) a genetickou výměnu se zbylými vlky. Tím vznikají v populaci adaptivní variace. Severovýchodní kojoti jsou někdy označováni také jako „kojvlci“. Jsou větší než jejich západní protějšky, mají proporciálně širší lebku a charakteristické chování. Východní vlk (*Canis lupus lycaon* Schreber, 1775) a západní kojot přispěli zjevně ke genetické konfiguraci severovýchodního kojota. Jedna třetina severovýchodních kojotů obsahuje mtDNA východního vlka.

Bylo zdokumentováno šest bílých kojotů. Tato zvířata mají pigmentovanou kůži i oči a malé množství skvrn v blízkosti uší, krku a třísel, ale jinak jsou nápadně bílí v porovnání s typickým kojotem, jehož srst je snědě šedá s černými špičkami a bílou na krku, bříše a vnitřní straně uší. Vzácná bílá zvířata, ať už albíni či nikoli, byla zaznamenána a podněcují zvědavost a zájem mezi výzkumníky i laickou veřejností.

Ze tří zkoumaných genů pouze MC1R obsahuje variantu, která je jednoznačně spojena se zbarvením srsti u newfoundlandských kojotů. V nápadném kontrastu k CBD103 a Agouti byl gen MC1R velmi variabilní mezi kojoty. Obsahuje šest variabilních míst, čtyři z nich jsou spojeny s aminokyselinovými substitucemi. Bílí kojoti byli homozygotní na všech variabilních místech a tím jasně homozygotní pro jednu MC1R alelu. Tato alela obsahuje dvě předpokládané aminokyselinové substituce, které by mohli představovat vypínací funkce mutace MC1R a tudíž by mohli být příčinou zbarvení srsti. Ani jedna z těchto variant

aminokyselin nebyla nalezena v homozygotní kombinaci u všech tmavých zvířat. Proto je velmi pravděpodobné, že jedna nebo dvě aminokyselinové varianty jsou spojeny s rozdílnou barvou srsti u kojotů. Se zbarvením je pravděpodobně spojena mutace R306Ter.

Selektivní výhoda může existovat i u kojotů bílého zbarvení (například maskování při lovu). Totéž platí i pro bílé medvědy. Vysoký podíl nesynonymních a synonymních substitucí v MC1R kojotů je také indikativní pozitivní selekcí (Brockerville et al., 2013).

3.5.10 Kamzík (*Rupicapra*)

Kamzíci, rod *Rupicapra*, obývají většinou střední až vysokou nadmořskou výšku jižní Eurasie. Taxonomie kamzíků a účinky historických událostí na její diverzifikaci jsou stále předmětem diskuze vzhledem k tomu, že různé morfologické a genetické znaky jsou prezentovány částečně nesouhlasnými pohledy. V současné době mezi jeden z morfologických znaků, které rozlišují dva druhy, patří zbarvení srsti. S rozdílným zbarvením souvisí MC1R. Byly identifikovány tři rozdílné haplotypy. Tím vyšlo najevo, že kamzík apeninský (*Rupicapra pyrenaica ornata* Neumann, 1899) je velmi rozdílný od zbytku populace *Rupicapra* (Pérez et al., 2013).

3.5.11 Lama (*Lama guanicoe*)

Barva srsti je jedním z nejnápadnějších fenotypových rozdílů mezi lamami (*Lama guanicoe* Linnaeus, 1758) a jejich divokým předkem. Ten vykazuje charakteristický divoký typ fenotypu s načervenalou hřbetní oblastí, bílým břichem a tmavě šedou hlavou. Lamy oproti tomu vykazují širokou škálu barev.

Sekvenční analýza Daverio et al. (2016) odhalila deset nesynonymních jednonukleotidových polymorfismů v genu MC1R. Byly identifikovány tři hlavní haplotypy, ale žádný z nich nebyl kompletně spojen s určitou barvou fenotypu. Nicméně, významná souvislost objevena byla.

Žádná ze studovaných alel neukázala kompletní korelaci s určitou barvou fenotypu. Nicméně, genotyp a alely byly významně odlišné mezi fenotypovými třídami. MC1R*1 varianta ukázala významný vztah s pigmentovanou srstí. Z 55 zvířat jich 50 vykazovalo alespoň jednu kopii MC1R*1 alely, zatímco u bílých lam nebyla tato alela pozorována. U skupiny bílých zvířat byla alela MC1R*2 nalezena s výrazně vyšší frekvencí než u barevných zvířat. Bylo také pozorováno, že všechny lamy s MC1R*2 alelou v homozygotním stavu jsou

bílé. Divoký genotyp (MC1R*3) byl pozorován u deseti zvířat, z nichž čtyři měli „černou tvář“ a šest zvířat bylo bílých. To poukazuje na vliv genů na tento fenotyp.

3.5.12 Buvol (*Bubalus bubalis bubalis*)

Domestikovaný vodní buvol (*Bubalus bubalis bubalis* Linnaeus, 1758) patří do skupiny Bovidae a je široce rozšířen po celé Asii, jižní Evropě, Jižní Americe a severní Africe. Je používán jako tažné zvíře a také na maso a mléko. Tento buvol má dva typy. Bažinný typ je zpravidla šedého nebo tmavě šedého zbarvení s bílými punčochami a lehkým pásem nebo límcem pod krkem. Méně běžné je bílé zbarvení na růžové kůži. Pro říčního buvola je typické černé zbarvení s bílými nebo hnědými skvrnami. Předchozí pozorování ukázala, že bílá barva by mohla být podmíněna jediným genem, který je úplně dominantní k šedé, částečně dominantní nebo eustatický k černé.

Bylo zjištěno, že říční buvol se od bažinného liší v MC1R genové sekvenci dvěma nesynonymními substitucemi. MC1R sekvence byla definována jako alela E^{BS} . To znamená, že všichni říční a bažinní buvoli jsou homozygoti s genotypem E^{BR}/E^{BR} a E^{BS}/E^{BS} . Podle očekávání jsou kříženci heterozygoti s genotypem E^{BR}/E^{BS} . V multi – generaci hybridního potomstva byl objeven homozygot nesoucí novou alelu, která byla označena jako E^{BRS} . V F_n generaci byli objeveni také dva heterozygoti s genotypem E^{BR}/E^{BRS} a E^{BS}/E^{BRS} .

Ukázalo se, že MC1R nemá žádnou spojitost s bílou a šedou barvou u buvola. Bílá a šedá barva by mohli být regulovány na jiném lokusu. Alela E^{BR} genu MC1R byla spojena s černou barvou srsti. S MC1R genem se na syntéze melaninu podílí mnoho dalších genů, zejména geny kódující proteiny nezbytné pro pigmentaci a biologii melanocytů, podílející se na regulaci zbarvení srsti (Miao et al., 2010).

3.5.13 Liška obecná (*Vulpes vulpes*)

Původní barva lišky obecné (*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758) byla červená. Později v důsledku přirozeného výběru se objevili jedinci s černou srstí. Tyto lišky jsou základem pro lišky se stříbrnou pigmentací srsti.

U lišek chovaných na farmách existuje vyšší genetická diverzita ve vztahu k divoké populaci. Volně žijící lišky mají nižší variabilitu v sekvenci genu MC1R (pouze jedna varianta v případě polských lišek a dvě u lišek Severní Ameriky). Faremní lišky jsou v tomto směru mnohem proměnlivější a vykazují čtyři různé profily. Vysoká variabilita se dá vysvětlit

nejen vymizením přirozeného výběru, ale také chovatelským zásahem. Rozdíly v genové variabilitě byly prokázány také u psů mývalovitých (Jakubczak et al., 2016).

Lišky, u kterých dochází k trvalé aktivitě MC1R jsou stříbrné. Lišky s ostatními kombinacemi alel se liší ve fenotypu kouřově červené se zlatým a stříbrným křížem (Brockerville et al., 2013).

3.5.14 Liška polární (*Alopex lagopus*)

Ve vysokých zeměpisných šířkách musí zvířata čelit sezónním změnám teploty, světla, dostupnosti potravin a barev jejich prostředí. Existují různé fyziologické adaptace podle druhu. Patří mezi ně hibernace, skladování energie pomocí tuku nebo modifikace srsti. Suprachiasmatické jádro (SCN) z hypotalamu je hlavní složkou savčích biologických hodin. Kardiostimulátor v tomto jádru koordinuje široké spektrum fyziologických, endokrinních a behaviorálních rytmů.

Liška polární (*Alopex lagopus* Linnaeus, 1758) je cirkumpolární obyvatel Arktidy a přirozeně se vyskytuje ve dvou barevných formách, bílé a modré. U bílé formy dochází ke změně pigmentu v průběhu sezónnosti. Letní srst se vyznačuje tmavým hřbetním a ventrálním světlým vzorem. Zatímco bílá zimní srst je vytvořena jako adaptace ke sněhu a ledovému prostředí. Sezónní srst se mění línáním vysoce izolační bílé zimní srsti na kratší hnědou/šedou letní srst. Tento proces začíná v květnu. Zimní srst začíná růst v září a je o 200% silnější než letní.

Modrá forma vykazuje uniformní tmavě šedou/modrou barvu v létě. Dominantní modré zbarvení se dědí jako jednoduchý mendelistický rys způsoben jedním genem. V zimní sezóně je srst světlejší než letní, ale mnohem více barevná ve srovnání s bílou formou polární lišky.

Byly objeveny dvě mutace v MC1R způsobující substituce aminokyselin. V poloze 5 je glycin nahrazen cysteinem a v pozici 280 je fenylalanin nahrazen cysteinem. Tyto dvě mutace jsou lokalizovány na počáteční extracelulární oblasti receptoru a vnější hranici transmembránové hranice.

Mezidruhové křížení mezi bílou polární liškou a standardní stříbrnou variantou lišky obecně poskytují přesvědčivé důkazy o funkci agouti proteinu u polární lišky. Stříbrná liška nenese agouti protein a červená barva nalezena v potomstvu musí být tedy způsobena „arktickým“ agouti proteinem. Vědci se domnívají, že dominantní agouti alela **A^w** je odpovědná za postupné odstranění veškerého eumelaninu ze srsti, čímž nahradí zimní srst tu

letní. Funkční vysvětlení by mohlo být to, že rovnováha mezi agouti proteinem a α – MSH je posunuta v souladu s fotoperiodou. V létě se zvyšuje množství UV záření a tím stoupá produkce α – MSH. Předpokládá se, že by chlupy mohli fungovat jako systém optických vláken pro dovedení UV světla do chlupového folikulu. Je ovšem potřeba ověřit to experimentálně. Je předpoklad, že díky mutacím má modrá forma menší schopnost reagovat na posuny v rovnováze agouti proteinu a α – MSH ovlivňující sezónní změny barvy srsti (Våge et al., 2005).

3.5.15 Primáti (Primates)

U primátů je MC1R podstatné v kolísání barvy srsti. Haitina et al. (2007) ukázaly, že MC1R se podílí na zbarvení srsti u lvička zlatohlavého (*Leontopithecus chrysomelas* Kuhl, 1820). Existuje také několik případů, kdy by role MC1R mohla být vyloučena mezi blízce příbuznými taxony. Například orangutani (*Pongo* Lacépede, 1799) jsou zcela načervenalí, zatímco tamarin skákavý (*Callimico goeldii* Thomas, 1904) je černý. Fixní rozdíly MC1R byly přítomny, ale potencionální úloha MC1R v barvě fenotypu není jistá. Orangutan má 13 rozdílů aminokyselin oproti lidské MC1R. A proto zůstává otázkou, zda je feomelanické zbarvení orangutanů způsobeno ztrátou funkce MC1R jako u lidí. V lidské MC1R je nižší intracelulární odpověď na α – MSH a mírně zvýšená bazální hladina cAMP. To ukazuje, že vývoj červeného zbarvení a červených vlasů u orangutanů a lidí má jiný genetický základ, neboť ztráta funkce MC1R tvoří základ fenotypu u lidí. Další možnou příčinou neustálé produkce feomelaninu u orangutanů je nadměrná exprese ASIP. V některých funkčních místech byly identifikovány mutace, ale očekávané fenotypové účinky nebyly přítomny.

Lemuři (*Lemur* Linnaeus, 1758) jsou nejvíce fylogeneticky vzdálení od člověka a mají nejvíce divergentní MC1R sekvence. Zdá se, že vazebné místo pro MSH je nefunkční, protože neexistuje detekovaná vazba. Hlavním mechanismem pro rozdíl zbarvení proto může být regulace ASIP.

Vřešťan (*Alouatta* Lacépede, 1799) má podobný profil MC1R jako někteří lemuři, s nedostatkem vazby MSH, vysokou bazální aktivitou a regulací ASIP.

Celkově výsledky ukazují, že jsou 3 důležité mechanismy regulující MC1R. Bazální činnost, která se liší od nejvyšší k nejnižší, nastaví základní aktivitu MC1R, který pak může být regulován MSH nebo ASIP. Nízká nebo vysoká bazální aktivita může být spojena s nízkou nebo vysokou reakcí MC1R a MSH, což ukazuje, že se mohou vyvíjet nezávisle.

V případě, že je vazba MC1R ztracena, regulace činnosti může být stále udržována prostřednictvím ASIP.

Tento mechanismus byl ztracen u gibbonů, kteří mají genomovou delecí ASIP lokusu. Otázkou je zda ztráta jednoho mechanismu vede ke snížení rozmanitosti v barvě (Haitina et al., 2007).

3.5.16 Ptáci (Aves)

Sulidae je skupina složená z 10 druhů pelagických mořských ptáků, rozdělených do tří rodů, *Papasula*, *Sula* a *Morus*. Existuje významná odchylka v množství a distribuci pigmentů melaninu mezi jednotlivými druhy. Byly objeveny tři barevné variace: bílá, bílohnědá a hnědá. Ukázalo se, že gen MC1R je dokonale spojen s barevnou variací. MC1R byl spojen s vnitrodruhovou variabilitou melaninu v peří u několika nepříbuzných druhů ptáků. Nicméně na jeho zapojení do mezidruhové variace existuje mnohem méně důkazů.

Všech deset druhů ve skupině Sulidae spadá do 4 široce definovaných kategorií barvy peří: 1) bílá dorzálně a ventrálně, 2) bílá ventrálně a na hlavě, hnědá dorzálně, 3) převážně bílá ventrálně ale s hlavou a částí krku a horních prsou hnědou, hnědá dorzálně, 4) hnědá dorzálně a ventrálně.

Ukázalo se, že substituce v MC1R nemají silný vliv na vzorování. Je pravděpodobné, že na zbarvení se více podílejí mutace v regulační oblasti genu. Avšak výskyt těchto substitucí by neměl být ignorován. Ukázalo se, že i malé změny v kódující oblasti MC1R mohou vytvářet dramatické změny ve fenotypu (Baião and Parker, 2012).

Ukázalo se, že MC1R může mít vliv na imunitní systém obratlovců, který je důležitý pro parazitární rezistenci. V Karibiku, u neotropického ptáka, banakita jamajského (*Caereba flaveola flaveola* Linnaeus, 1758), nastávají dva odlišné typy zbarvení. Divoký („žlutý“) je všudypřítomný v celém regionu. „Černý“ typ se nachází pouze v jižním Karibiku. Vzniká jako výsledek dominantní bodové mutace v kódující oblasti genu MC1R. Podíl černých ptáků se zvyšuje směrem k centrálním oblastem. Podíl černých ptáků se zvyšuje z 10 až na 90% na vzdálenost 4 km. Frekvence výskytu je silně spojena s variací klimatu a místem výskytu. Žlutí ptáci jsou nejběžnější v nejsušší, nízko položené oblasti otevřených lesů a křovin. Zatímco frekvence černých ptáků se zvyšuje ve vlhčích oblastech a vyšších nadmořských výškách. Nicméně oba typy se překrývají. Žlutí ptáci nejsou přítomni pouze v nejmokřejší oblasti, kde je les nejrozvinutější. Rozdíly v barvě mohou být spojeny s malými rozdíly

v mikroorganismech na vybraných místech. Ukázalo se, že péřový roztoči se více vyskytují u černých ptáků (MacColl et al., 2013).

U ostříže jižního (*Falco eleonora* Gené, 1839) dochází k diskrétní změně melaninu na bázi zbarvení peří. To lze dokonale vysvětlit jako delecí v rámci čtyř aminokyselin na MC1R genu. Udržování polymorfismu dlouhodobě implikuje nepřítomnost směrového výběru upřednostňováním jedné varianty před druhou nebo selektivní rovnováhou mezi alternativními genotypy a barevnými variantami představujícími stejné strategie jak se vyrovnat s kolísáním faktorů životního prostředí. To naznačuje, že různé fenotypy mohou být přizpůsobeny specifickým podmínkám prostředí a tudíž zabírají stejné stanoviště. Potencionální selektivní hodnota může zahrnovat utajení v průběhu lovu nebo odolnost proti oděru peří (Grangoso et al., 2011).

Raroh lovecký (*Falco rusticolus* Linnaeus, 1758) obývá nejrůznější arktické a subarktické stanoviště v Severní Americe a Eurasii. Jednotlivci se výrazně liší v barvě peří a mohou mít peří bílé až po tmavě šedou/hnědou. Studie ukázala, že MC1R je zapojen do albinismu, a to nejen u rarocha loveckého. To souvisí s přizpůsobováním se prostředí u arktických zvířat (Zhan et al., 2012).

3.5.17 Hadi (Serpentes)

MC1R se podílí na tvorbě barveného vzoru nejen u savců a ptáků ale také u plazů. U plazů MC1R zejména reguluje množství melaninu v šupinách.

Byly zkoumány rody *Chilomeniscus*, *Chionactis* a *Sonora*. Bylo zjištěno, že oblast kódující MC1R byla proměnlivá mezi jednotlivými druhy. To mělo za následek relativně malý počet substitucí aminokyselin. Tyto substituce aminokyselin nebyly významně spojeny s pruhy. Nebyla zjištěna statistická asociace MC1R s pruhy. Tento závěr je podpořen skutečností, že byla zjištěna nulová nukleotidová nebo aminokyselinová změna v místech spojených s adaptivními rozdíly v MC1R u jiných šupinatých plazů.

Avšak nelze zcela vyloučit úlohu MC1R na zbarvení, jelikož došlo k testování pouze pro jeden typ melanistického polymorfismu. Nicméně rod *Sonora* ukazuje další barevné variace v základní barvě a někteří hadi mají dokonce tmavý nebo melanistický vzhled.

MC1R je nepochybně důležitý pro tvorbu melaninu u hadů. Ačkoliv studie šupinatých hadů ukazují smíšené výsledky role MC1R na fenotyp. Výzkum v rámci hromadné studie určil roli MC1R v barevném vzoru odpovídajícímu pozadí (Cox et al., 2013).

3.5.18 Ryby (Osteichthyes)

Na rozdíl od savců mají ryby pouze eumelanin a nejsou schopny produkovat phaeomelanin (Selz et al., 2007). Barevný vzor u ryb zahrnuje šest typů pigmentových buněk – melanofory (tmavý pigment), xanthofory (žlutý pigment), erythrofony (červený pigment), leukofory (bílý pigment), cyanofory (modrý pigment) a iridofory (stříbřitý pigment). Interakce těchto buněk zejména prostřednictvím migrace a diferenciálních rychlostí a proliferace generuje několik tělních tónů a zvorů (Henning et al., 2010).

Stejně jako v savčích systémech je MC1R zapojen v barevném vzoru ryb (Sánchez et al., 2010).

Gen MC1R byl analyzován u dospělců a embryí několika druhů ryb: mečovka (*Xiphophorus* Heckel, 1848), medaka (*Adrianichthys* Weber, 1913) a dánío pruhované (*Danio rerio* Hamilton, 1822). MC1R transkripty byly detekovány ve všech dospělých testovaných orgánech včetně mozku, očí, žáber, svalů, kůže a varlat u mečovky a medaky. Nízké hladiny RNA byly pozorovány v játrech a vaječnicích. Stejně tomu bylo i u embryonálních orgánů. Je zajímavé, že MC1R byla zjištěna již ve fázi 8 – 9 (4/5 h, časná/pozdní morula), to je mnohem dříve, než je určen vzhled prvních melanoforů. U dánía pruhovaného byla MC1R detekována v mozku, očích, kůži a varlatech, ale ne v žábách, játrech, svalech a vaječnicích. Gen byl pozorován u 24 hodin starých emryí, kde se začíná objevovat pigmentace (Selz et al., 2007).

Jeskyní zvířata jsou vynikajícími modely pro zkoumání změn ve zbarvení vzhledem k opakující se ztrátě pigmentace v organismu, který žije uprostřed temného podzemního prostředí (Stahl and Gross, 2015). Hnědá mutace pozorovaná u tetry mexické (*Astyanax mexicanus* De Filippi, 1853) má za následek snížení obsahu melaninu a nahnědlé oči. V rybí hypofýze byly popsány všechny tři formy MSH a regulace MSH se zdá být důležitým mechanismem pro přizpůsobení se pozadí a tvorbě pigmentových vzorů. MC1R je exprimován v různých centrálních a periferních tkáních. Bylo prokázáno, že agouti relativní protein vede ke snížení aktivity receptoru, působí jako inverzní antagonist. To naznačuje, že receptor je konstitutivně aktivován. Kromě toho výsledky naznačují, že by AGRP mohl hrát parakrinní nebo autokrinní úlohy tím, že reguluje konstitutivní aktivitu receptoru u mořského vlka (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) (Sánchez et al., 2010).

Přirozené populace druhu kančík citrónový (*Amphilophus citrinellus* Günther, 1864) v několika různých kráterech jezera Nikaragui vykazují nápadné barevné polymorfismy. Většina jedinců je tmavá a zbývající mají zlaté zbarvení. Barevné vzory zvířat se často vyvíjejí s ohledem na přizpůsobení se životnímu prostředí, které často zahrnuje vývoj

kryptického zbarvení. Pohlavní výběr působící na barevné vlastnosti však může oponovat účinkům přirozeného výběru a vést k vývoji nápadného zbarvení. Konkrétně u kančíka citrónového zjevně barva představuje důležitý aspekt při páření a souvisí se zřízením a vedením reprodukční izolace a asociace. Tmaví jedinci mají příčný vzor se svislými černými pruhy, které jsou zesíleny během sociálních interakcí, jako je například páření a obrana území. Zlatá zvířata vykazují tmavé zbarvení typicky před dosažením jednoho roku věku, kdy podstoupí změnu barvy pravděpodobně přes melanoforovou buněčnou smrt.

Úloha MC1R v adaptivní evoluci pigmentace se zdá být nedostačující. Jedním z vysvětlení by mohla být větší rozmanitost pigmentů a pigmentových buněk nalezených v rybách ve srovnání s ptáky a savci (Henning et al., 2010).

Dohromady tyto výsledky ukazují, že MC1R má odlišné expresní vzory u rozdílných rybích linií. Ukázalo se, že některé důležité prvky, které slouží pro správnou funkci MC1R u savců, nejsou konzervovány u ryb. To naznačuje buď liniově specifické funkční rozdíly u obratlovců nebo alternativní změnu role aminoacidů při signalizaci MC1R (Selz et al., 2007).

3.6 MC1R u lidí

MC1R varianty jsou dobře charakterizovány u lidské populace. Feomelanické zbarvení je u lidí způsobeno ztrátou funkce MC1R. V lidské MC1R je inžší intracelulární odpověď na α – MSH a mírně zvýšená bazální hladina cAMP. Ztráta funkce MC1R je spojena s červenými vlasy a bledou kůží (Haitina et al., 2007).

Studie Kijas et al. (1998) lidské MC1R objevily alespoň 20 alelických variant a některé z nich jsou spojeny se zrzavými vlasy a světlou kůží. ASP vázaný na MC1R blokuje výrobu eumelaninu a indukuje syntézu feomelaninu, který má mnohem menší ochranný účinek proti UV záření. To způsobuje horší opalovací schopnost. Z tohoto důvodu může být MC1R považován za gen citlivý k rakovině kůže. Kromě toho je MC1R považován za nádorový marker (Selz et al., 2007).

3.7 Využití genetické analýzy k identifikaci plemene

Sledovatelnost hospodářských zvířat podle plemen se stává důležitým problémem při ověřování pravosti jejich výrobků. V marketingu roste zájem o jednoplemenné značené maso i o mléčné výrobky. Některé mléčné výrobky získaly chráněné označení původu (PDO). Tento zájem vyplývá ze skutečnosti, že marketingový odkaz mezi plemenem a jeho původním výrobkem může přispět ke zlepšení ziskovosti plemene, např. udržitelnost produktů hospodářských zvířat s významným dopadem na hospodářství venkova, zachování plemene nebo biologickou rozmanitost.

Analýza DNA přítomného u všech zvířecích produktů může být použita ke zpětnému zjištění původu jednotlivých zvířat a odvození jejich plemene (Russo et al., 2009).

3.7.1 Parmigiano Reggiano

Plemeno Reggiana, o jehož sledování je velký zájem z důvodu jednosemenného sýru Parmigiano Reggiano, ukázalo fixaci alely *e*. To umožňuje říct, že MC1R je vysoce informativní pro toto plemeno ve srovnání s plemeny, která disponují jinými alelami, nebo u nichž se alela *e* vyskytuje ve velmi malé frekvenci. Tím pádem je možné rozlišit Parmigiano Reggiano sýr od sýrů udělaných z mléka plemen Holstein – Friesian, Italský Brown, Rendla, Mondese a Jersey. Všechna tato plemena jsou, s výjimkou Rendena, přítomna v geografické oblasti s produkcí Parmigiano Reggiano.

Ačkoliv užívání polymorfismů nemůže dát úplnou odpověď na otázku jakého původu je mléko, z něhož jsou výrobky vyrobeny, ale dokáže alespoň v některých případech vyloučit nebo určit plemeno původu produktu. Genetický test, který byl použit pro analýzu zvířecí stopy v sýrech, může představovat první odstrašující prostředek proti podvodům a důležitý nástroj pro zhodnocení a autentizaci sýru Parmigiano Reggiano získaného pouze z plemene Reggiano (Russo et al., 2009).

3.7.2 RDO sýry

Některá pravidla, která respektují tradiční výrobu sýrů: a) geografická oblast pro chov a výrobu sýrů, b) přírodní výživa pro dobytek – tráva a seno, c) přísná pravidla pro výrobu a zrání, d) omezený počet specifických mléčných plemen.

Ve francouzských Alpách probíhá výroba tří RDO sýrů, která mají omezený počet plemen skotu. Jsou to Beaufort, Abondance a Reblochon sýry. Tyto sýry by měli být

vyrobeny pouze z mléka dvou nebo tří horských plemen skotu. Mezi tato plemena patří: Abondance, Tarentaise a Montbeliarde. Aby byla zjištěna kvalita výrobku, jsou prováděny zkoušky pro certifikaci těchto sýrů.

Holštýnské plemeno je primární plemeno užívané ve Francii na produkci mléka. Proto je potřeba znát techniku zejména pro detekci Holštýnského plemena. Horská plemena a plemeno Holstein jsou morfologicky odlišné. I když existuje jen málo morfologických znaků odlišujících jednotlivá plemena, můžeme předpokládat, že geny, které určují tyto znaky, jsou odlišné mezi plemeny. Byl studován hlavní znak, který umožňuje diferenciaci těchto čtyř plemen – zbarvení srsti.

Plemeno Holstein je černé a bílé, zatímco Montbeliarde je červené a bílé, Abondance bílé a hnědé a Tarentaise červené a černýma nohama a rohy.

Ukázalo se, že gen MC1R je užitečný pro monitorování výroby sýrů RDO a mohl by být použit také na pomoc při zařazení spermatu nebo embryí k určitému plemenu (Maudet et al., 2002).

4 Závěr

Kombinace působení několika genů a jejich mutací způsobuje vznik velkého množství fenotypů. Někdy postačí ke vzniku nového genotypu pouze několik generací. Toho lze využít zejména u domestikovaných zvířat, kde v některých případech fenotyp hraje klíčovou roli.

Došla jsem k závěru, že MC1R hraje významnou roli při pigmentaci srsti u zvířat. Jeho role byla potvrzena nejen u savců, ale také u ptáků, plazů a ryb. Mutace v tomto genu mohou způsobit vznik zcela nových barevných variant.

MC1R ale ovlivňuje i jiné charakteristiky, například temperament nebo imunitní systém. To je způsobeno pleiotropním účinkem genu. Proto je důležité znát působení jednotlivých genů při pigmentaci, jelikož podle zbarvení lze předpokládat i jiné vlastnosti zvířat.

Vždy je však důležité brát ohled i na jiné faktory ovlivňující pigmentaci srsti. Patří mezi ně další geny, přírodní podmínky, roční období nebo výživa.

5 Seznam použité literatury

Agnarsson, I., May-Collado, L. J. 2008. The phylogeny of Cetartiodactyla: the importance of dense taxon sampling, missing data, and the remarkable promise of cytochrome b to provide reliable species-level phylogenies. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48(3), 964-985.

Aris, I. M., Tint, M. T., Teh, A. L., Holbrook, J. D., Quah, P. L., Chong, M. F., Lin., X., Soh, S. E., Saw, S., Kweek, K., Gluckman, P. D., Chong, Y. S., Lek, N., Yap, F., Lee, Y. S., Godfrey, K. M. 2015. MC3R gene polymorphisms are associated with early childhood adiposity gain and infant appetite in an Asian population. *Pediatric obesity*.

Ayoub, N. A., McGowen, M. R., Clark, C., Springer, M. S., Gatesy, J. 2009. Evolution and phylogenetic utility of the melanocortin-1 receptor gene (MC1R) in Cetartiodactyla. *Molecular phylogenetics and evolution*, 52(2), 550-557.

Baião, P. C., Parker, P. G. 2012. Evolution of the melanocortin-1 receptor (MC1R) in Boobies and Gannets (Aves, Suliformes). *Journal of Heredity*, esr151.

Brockerville, R. M., McGrath, M. J., Pilgrim, B. L., Marshall, H. D. 2013. Sequence analysis of three pigmentation genes in the Newfoundland population of *Canis latrans* links the Golden Retriever *Mc1r* variant to white coat color in coyotes. *Mammalian genome*, 24(3-4), 134-141.

Canu, A., Vilaça, S. T., Iacolina, L., Apollonio, M., Bertorelle, G., Scandura, M. 2016. Lack of polymorphism at the MC1R wild-type allele and evidence of domestic allele introgression across European wild boar populations. *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde*, 81(5), 477-479.

Cox, C. L., Rabosky, A. R. D., Chippindale, P. T. 2013. Sequence variation in the *Mc1r* gene for a group of polymorphic snakes. *Gene*, 513(2), 282-286.

Daverio, M. S., Rigalt, F., Romero, S., Vidal-Rioja, L., Di Rocco, F. 2016. Polymorphisms in MC1R and ASIP genes and their association with coat color phenotypes in llamas (*Lama glama*). *Small Ruminant Research*, 144, 83-89.

- Dun, G., Li, X., Cao, H., Zhou, R., Li, L. 2007. Variations of melanocortin receptor 1 (MC1R) gene in three pig breeds. *Journal of Genetics and Genomics*, 34(9), 777-782.
- Duval, C., Smit, N. P., Kolb, A. M., Régnier, M., Pavel, S., Schmidt, R. 2002. Keratinocytes control the pheo/eumelanin ratio in cultured normal human melanocytes. *Pigment Cell & Melanoma Research*, 15(6), 440-446.
- Emaresi, G., Ducrest, A. L., Bize, P., Richter, H., Simon, C., Roulin, A. 2013. Pleiotropy in the melanocortin system: expression levels of this system are associated with melanogenesis and pigmentation in the tawny owl (*Strix aluco*). *Molecular ecology*, 22(19), 4915-4930.
- Fontanesi, L., Beretti, F., Riggio, V., Dall'Olio, S., Calascibetta, D., Russo, V., Portolano, B. 2010a. Sequence characterization of the melanocortin 1 receptor (MC1R) gene in sheep with different coat colours and identification of the putative e allele at the ovine Extension locus. *Small Ruminant Research*, 91(2), 200-207.
- Fontanesi, L., Beretti, F., Riggio, V., Dall'Olio, S., González, E. G., Finocchiaro, R., Davoli, R., Russo, V., Portolano, B. 2009. Missense and nonsense mutations in melanocortin 1 receptor (MC1R) gene of different goat breeds: association with red and black coat colour phenotypes but with unexpected evidences. *BMC genetics*, 10(1), 47.
- Fontanesi, L., Dall'Olio, S., Beretti, F., Portolano, B., Russo, V. 2011. Coat colours in the Massese sheep breed are associated with mutations in the agouti signalling protein (ASIP) and melanocortin 1 receptor (MC1R) genes. *Animal*, 5(01), 8-17.
- Fontanesi, L., Scotti, E., Colombo, M., Beretti, F., Forestier, L., Dall'Olio, S., Deretz, S., Russo, V., Allain, D., Oulmouden, A. 2010b. A composite six bp in-frame deletion in the melanocortin 1 receptor (MC1R) gene is associated with the Japanese brindling coat colour in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *BMC genetics*, 11(1), 59.
- Fontanesi, L., Tazzoli, M., Beretti, F., Russo, V. 2006. Mutations in the melanocortin 1 receptor (MC1R) gene are associated with coat colours in the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Animal genetics*, 37(5), 489-493.

- Fridmanis, D., Roga, A., Klovins, J. 2017. ACTH receptor (MC2R) specificity: what do we know about underlying molecular mechanisms?. *Frontiers in Endocrinology*, 8.
- Gangoso, L., Grande, J. M., Ducrest, A. L., Figuerola, J., Bortolotti, G. R., Andrés, J. A., Roulin, A. 2011. MC1R-dependent, melanin-based colour polymorphism is associated with cell-mediated response in the Eleonora's falcon. *Journal of evolutionary biology*, 24(9), 2055-2063.
- Haitina, T., Ringholm, A., Kelly, J., Mundy, N. I., Schiöth, H. B. 2007. High diversity in functional properties of melanocortin 1 receptor (MC1R) in divergent primate species is more strongly associated with phylogeny than coat color. *Molecular biology and evolution*, 24(9), 2001-2008.
- Henning, F., Renz, A. J., Fukamachi, S., Meyer, A. 2010. Genetic, comparative genomic, and expression analyses of the *Mclr* locus in the polychromatic Midas cichlid fish (Teleostei, Cichlidae *Amphilophus* sp.) species group. *Journal of Molecular Evolution*, 70(5), 405-412.
- Ito, S., Jimbow, K. 1983. Quantitative analysis of eumelanin and pheomelanin in hair and melanomas. *Journal of Investigative Dermatology*, 80(4), 268-272.
- Jacobs, L. N., Staiger, E. A., Albright, J. D., Brooks, S. A. 2016. The MC1R and ASIP coat color loci may impact behavior in the horse. *Journal of Heredity*, 107(3), 214-219.
- Jakubczak, A., Gryzinska, M., Horecka, B., Kowalczyk, M., Kasperek, K., Gajewska, K., Jezewska-Witkowska, G. 2016. Single-nucleotide polymorphism of MC1R, ASIP, and TYRP2 genes in wild and farmed foxes (*Vulpes vulpes*). *Canadian Journal of Animal Science*, 96(2), 172-179.
- Kerns, J. A., Olivier, M., Lust, G., Barsh, G. S. 2003. Exclusion of melanocortin-1 receptor (*mc1r*) and agouti as candidates for dominant black in dogs. *Journal of Heredity*, 94(1), 75-79.
- Kijas, J. M. H., Wales, R., Törnsten, A., Chardon, P., Moller, M., Andersson, L. 1998. Melanocortin receptor 1 (MC1R) mutations and coat color in pigs. *Genetics*, 150(3), 1177-1185.

- Kodama, S., Nunome, M., Moriwaki, K., Suzuki, H. 2015. Ancient onset of geographical divergence, interpopulation genetic exchange, and natural selection on the Mc1r coat-colour gene in the house mouse (*Mus musculus*). *Biological journal of the linnean society*, 114(4), 778-794.
- Koutsogiannouli, E. A., Moutou, K. A., Sarafidou, T., Stamatis, C., Mamuris, Z. 2010. Detection of hybrids between wild boars (*Sus scrofa scrofa*) and domestic pigs (*Sus scrofa f. domestica*) in Greece, using the PCR-RFLP method on melanocortin-1 receptor (MC1R) mutations. *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde*, 75(1), 69-73.
- Lai, Y. C., Shiroishi, T., Moriwaki, K., Motokawa, M., Yu, H. T. 2008. Variation of coat color in house mice throughout Asia. *Journal of Zoology*, 274(3), 270-276.
- Lee, D. J., Preble, J., Lee, S., Foster, C. S., Taylor, A. W. 2016. MC5r and A2Ar Deficiencies During Experimental Autoimmune Uveitis Identifies Distinct T cell Polarization Programs and a Biphasic Regulatory Response. *Scientific Reports*, 6.
- Linderholm, A., Spencer, D., Battista, V., Frantz, L., Barnett, R., Fleischer, R. C., James, H. F., Duffy, D., Sparks, J. P., Clements, D. R., Andersson, L., Dobney, K., Leonard, J. A., Larson, G. 2016. A novel MC1R allele for black coat colour reveals the Polynesian ancestry and hybridization patterns of Hawaiian feral pigs. *Royal Society Open Science*, 3(9), 160304.
- MacColl, A. D., Stevenson, I. R., Richardson, D. S. 2013. Melanocortin-1-receptor (MC1R) variation is not associated with parasite burden in a neotropical bird, the bananaquit (*Coereba flaveola*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 108(4), 882-888.
- Maudet, C., Taberlet, P. 2002. Holstein's milk detection in cheeses inferred from melanocortin receptor 1 (MC1R) gene polymorphism. *Journal of Dairy Science*, 85(4), 707-715.
- McRobie, H. R., King, L. M., Fanutti, C., Symmons, M. F., Coussons, P. J. 2014. Agouti signalling protein is an inverse agonist to the wildtype and agonist to the melanic variant of the melanocortin-1 receptor in the grey squirrel (*Sciurus carolinensis*). *FEBS letters*, 588(14), 2335-2343.

- Miao, Y., Wu, G., Wang, L., Li, D., Tang, S., Liang, J., Mao, H., Luo H., Zhang, Y. 2010. The role of MC1R gene in buffalo coat color. *Science China Life Sciences*, 53(2), 267-272.
- Ollmann, M. M., Lamoreux, M. L., Wilson, B. D., Barsh, G. S. 1998. Interaction of Agouti protein with the melanocortin 1 receptor in vitro and in vivo. *Genes & development*, 12(3), 316-330.
- Pérez, T., Essler, S., Palacios, B., Albornoz, J., Domínguez, A. 2013. Evolution of the melanocortin-1 receptor gene (MC1R) in chamois (*Rupicapra* spp.). *Molecular phylogenetics and evolution*, 67(3), 621-625.
- Rieder, S., Taourit, S., Mariat, D., Langlois, B., Guérin, G. 2001. Mutations in the agouti (ASIP), the extension (MC1R), and the brown (TYRP1) loci and their association to coat color phenotypes in horses (*Equus caballus*). *Mammalian genome*, 12(6), 450-45
- Rinken, A., Veiksina, S., Kopanchuk, S. 2016. Dynamics of ligand binding to GPCR: Residence time of melanocortins and its modulation. *Pharmacological research*, 113, 747-753.
- Russo, V., Fontanesi, L., Scotti, E., Tazzoli, M., Dall'Olio, S., Davoli, R. 2009. Analysis of melanocortin 1 receptor (MC1R) gene polymorphisms in some cattle breeds: their usefulness and application for breed traceability and authentication of Parmigiano Reggiano cheese. *Italian Journal of Animal Science*, 6(3), 257-272.
- Sánchez, E., Rubio, V. C., Cerdá-Reverter, J. M. 2010. Molecular and pharmacological characterization of the melanocortin type 1 receptor in the sea bass. *General and comparative endocrinology*, 165(1), 163-169.
- San - Jose, L. M., Ducrest, A. L., Ducret, V., Simon, C., Richter, H., Wakamatsu, K., Roulin, A. 2016. MC1R variants affect the expression of melanocortin and melanogenic genes and the association between melanocortin genes and coloration. *Molecular Ecology*.
- Selz, Y., Braasch, I., Hoffmann, C., Schmidt, C., Schultheis, C., Schartl, M., Volff, J. N. 2007. Evolution of melanocortin receptors in teleost fish: the melanocortin type 1 receptor. *Gene*, 401(1), 114-122.

- Schmutz, S. M., Dreger, D. L. 2013. Interaction of MC1R and PMEL alleles on solid coat colors in Highland cattle. *Animal genetics*, 44(1), 9-13.
- Siefferman, L. and Hill, G. E. 2005. UV-blue structural coloration and competition for nestboxes in male eastern bluebirds. *Animal Behaviour*, 69(1), 67-72.
- Slominski, A., Tobin, D. J., Shibahara, S., Wortsman, J. 2004. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. *Physiological reviews*, 84(4), 1155-1228.
- Stahl, B. A., Gross, J. B. 2015. Alterations in Mc1r gene expression are associated with regressive pigmentation in *Astyanax* cavefish. *Development genes and evolution*, 225(6), 367-375.
- Stachurska, A., Brodacki, A. 2008. Variation of gene frequencies in ASIP, MC1R and GREY loci in Thoroughbred horses. *Livestock Science*, 113(2), 163-168.
- Stoner, C. J., Caro, T. M. and Graham, C. M. 2003. Ecological and behavioral correlates of coloration in artiodactyls: systematic analyses of conventional hypotheses. *Behavioral Ecology*, 14(6), 823-840.
- Våge, D. I., Fuglei, E., Snipstad, K., Beheim, J., Landsem, V. M., Klungland, H. 2005. Two cysteine substitutions in the MC1R generate the blue variant of the arctic fox (*Alopex lagopus*) and prevent expression of the white winter coat. *Peptides*, 26(10), 1814-1817.
- Wang, G. D., Cheng, L. G., Fan, R. X., Irwin, D. M., Tang, S. S., Peng, J. G., Zhang, Y. P. 2013. Signature of balancing selection at the MC1R gene in Kunming dog populations. *PLoS one*, 8(2), e55469.
- Xi, D., Liu, Q., Huo, Y., Sun, Y., Leng, J., Gou, X., Mao, H., Deng, W. 2012. Nucleotide diversity of the melanocortin 1 receptor gene (MC1R) in the gayal (*Bos frontalis*). *Molecular biology reports*, 39(7), 7293-7301.

Xu, G. L., Ren, J., Ding, N. S., Ai, H. S., Guo, Y. M., Chen, C. Y., Huang, L. S. 2006. Genetic analysis of the KIT and MC1R genes in Chinese indigenous pigs with belt-like coat color phenotypes. *Animal genetics*, 37(5), 518-518.

Yang, S. L., Lin, R. Y., Xu, L. X., Cheng, L. 2014. Analysis of polymorphisms of mitochondrial DNA D-loop and Mc1R gene in Chinese Wuchuan Black cattle. *Journal of Applied Animal Research*, 42(4), 487-491.

Zhan, X. J., Dixon, A., Fox, N. C., Bruford, M. W. 2012. Missense SNP of the MC1R gene is associated with plumage variation in the Gyr Falcon (*Falco rusticolus*). *Animal genetics*, 43(4), 460-462.

Zhang, Y., Li, Q., Ye, S., Faruque, M. O., Yu, Y., Sun, D., Zhang, S., Wang, Y. 2014. New variants in the melanocortin 1 receptor gene (MC1R) in Asian cattle. *Animal genetics*, 45(4), 609-610.