

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH
BUDĚJOVICÍCH**

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

**Asociace polymorfizmu kandidátních
genů s masnou užitkovostí skotu**

Bakalářská práce

Vedoucí práce: prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.

Autor práce: Ing. Václav Půbal

České Budějovice, 2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Ing. Václav PŮBAL**

Osobní číslo: **Z11518**

Studijní program: **B4131 Zemědělství**

Studijní obor: **Agropodnikání**

Název tématu: **Asociace polymorfismu vybraných kandidátních genů s masnou užitkovostí skotu**

Zadávací katedra: **Katedra zootechnických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Využití molekulárně genetických metod se stává běžnou součástí šlechtění hospodářských zvířat. Jedná se o genotypizaci jednoduchých bodových polymorfismů na čípech, dále potom o genotypizaci kandidátních lokusů - genů velkého účinku. Cílem těchto postupů je určit genotypovou hodnotu zvířete na genové úrovni, což umožňuje zpřesnit selekci a výrazně zkrátit generační interval. Bakalářská práce se bude týkat kandidátních lokusů ovlivňujících masnou užitkovost skotu.

Cílem bakalářské práce je vytvořit literární rešerši shrnující poznatky o vybraných kandidátních lokusech s potenciálním vztahem k masné užitkovosti skotu.

Zpracujete literární rešerši, v níž shrnete dosavadní poznatky o asociační analýze vybraných kandidátních lokusů se vztahem k masné užitkovosti skotu. Lokusy vyberete na základě analýzy literárních pramenů. Součástí práce bude rovněž stručný popis metod genotypizace kandidátních lokusů. Důraz bude kladen zejména na kvalitativní aspekty produkce hovězího masa. V závěru práce uvedete stručná doporučení pro chovatelské využití získaných poznatků.

Rozsah grafických prací: 3 - 5 tabulek
Rozsah pracovní zprávy: 30 - 40 stran
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

Dunner S., Miranda M., Amigues Y., Canon J., Georges M., Hanset R., Williams J., Menissier F. (2003): Genetics, Selection, Evolution / Haplotype diversity of the myostatin gene among beef cattle breeds. EDP Sciences, 35, 103-118.

Ekerljung M., Li X., Lunden A., Lundstrom K., Marklund S., Nasholm A. (2012): Associations between candidate SNPs in the calpain 1, calpastatin and leptin genes and meat tenderness among Swedish beef populations. Acta Agriculturae Scandinavica, 62, 114-119.

Aviles C., Pena F., Polvillo O., Barahona M., Campo M., Sanudo C., Juarez M., Horcada A., Alcalde M., Molina A. (2015): Association between functional candidate genes and organoleptic meat traits in intensively-fed beef. Meat Science, 107, 33-38.

Anton I., Kovacs K., Hollo G., Farkas V., Lehel L., Hajda Z. Zsolnai A. (2011): Effect of leptin, DGAT1 and TG gene polymorphisms on the intramuscular fat of Angus cattle in Hungary. Livestock Science, 135, 300-303.


Vedoucí bakalářské práce: prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.
Katedra zootechnických věd

Datum zadání bakalářské práce: 17. října 2016

Termín odevzdání bakalářské práce: 15. června 2017


prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan


JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentůvká 1888, 370 05 České Budějovice


doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 17. října 2016

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením Ing. et Ing. Boženy Hosnedlové Ph.D. a profesora Ing. Jindřicha Čítka CSc. za použití literatury, uvedené v seznamu.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

Datum

Podpis

Poděkování:

Zde bych rád poděkoval předchozí vedoucí mé práce, Ing. *et* Ing. Boženě Hosnedlové, Ph.D., za odborné vedení a trpělivost při zpracování a profesorovi Ing. Jindřichovi Čítkovi za dokončení této bakalářské práce.

"Jestliže si někdo myslí, že něco už plně poznal, ještě nepoznal tak, jak je třeba."

(1. Kor 8,2)

ABSTRAKT

Výzkum v oblasti molekulární genetiky spěje rychlým tempem kupředu a stejně tak se dramaticky navyšuje penzum vědomostí o geneticky založených, ekonomicky důležitých vlastnostech kulturních zvířat a rostlin. Tato práce podává přehled aktuálních poznatků o kandidátních genech a asociaci jejich polymorfizmů s masnou užitkovostí a kvalitou hovězího masa. Vybraných 10 genů zahrnuje: *CAST* (calpastatin), *PLAG1* (pleomorphic adenoma gene), *ANK1* (ankyrin 1), *FABP4* (fatty acid binding protein 4), *FASN* (fatty acid synthase), *SCD* (stearoyl-CoA desaturase), *LEP* (leptin), *MSTN* (myostatin), *IGF2* (insulin-like growth factor 2) a *TG* (thyroglobulin).

Klíčová slova: Skot, kandidátní gen, SNP, kvalita hovězího masa.

ABSTRACT

Molecular genetic research has a very dynamic development, and also genetically based economic production traits of domestic animals and plants are in the spotlight of researchers and breeders. This paper summarizes an actual overview on the field of candidate genes and their SNP associations with beef quality and yield, with their short description, resulting assigning the genes for practical breeding. There were described 10 genes: *CAST* (calpastatin), *PLAG1* (pleomorphic adenoma gene), *ANK1* (ankyrin 1), *FABP4* (fatty acid binding protein 4), *FASN* (fatty acid synthase), *SCD* (stearoyl-CoA desaturase), *LEP* (leptin), *MSTN* (myostatin), *IGF2* (insulin-like growth factor 2) and *TG* (thyroglobulin).

Keywords: Cattle, candidate gene, SNP, beef quality.

Obsah

| | |
|--|----|
| 1. Úvod..... | 9 |
| 2. Cíl práce..... | 10 |
| 3. Literární přehled..... | 11 |
| 3.1 Popis genomu skotu..... | 11 |
| 3.2 Technika – metoda analýzy polymorfizmu..... | 13 |
| 3.2.1 PCR – polymerázová řetězová reakce..... | 13 |
| 3.2.2 RFLP – polymorfizmus délky restričních fragmentů | 15 |
| 3.2.3 Sekvenování..... | 15 |
| 3.2.4 NGS – sekvenování nové generace..... | 16 |
| 3.3 Kvalitativní parametry hovězího masa..... | 18 |
| 3.4 Kandidátní geny..... | 21 |
| 3.4.1 CAST..... | 22 |
| 3.4.2 PLAG1..... | 25 |
| 3.4.3 ANK1..... | 28 |
| 3.4.4 FABP4..... | 30 |
| 3.4.5 FASN..... | 32 |
| 3.4.6 SCD..... | 35 |
| 3.4.7 LEP..... | 37 |
| 3.4.8 MSTN (GDF8)..... | 39 |
| 3.4.9 IGF2..... | 41 |
| 3.4.10 TG | 43 |
| 4. Závěr..... | 45 |
| 5. Seznam použitých zkratk..... | 46 |
| 6. Literatura..... | 47 |

1. Úvod

Tajemství dědičnosti vloh u živého tvorstva je středem zájmu člověka od ne-paměti a točilo se kolem něj spousta filosofických úvah. Prakticky se proces šlechtění prováděl pouze selekcí, avšak základy, které umožnily lidstvu její pochopení a vyu-žívání ku svému užitku, dal teprve okolo roku 1865 svou teorií dědičnosti Johann Gregor Mendel. Tím nastartoval období klasické genetiky, která lidstvu v průběhu času přinesla velké množství nově vyšlechtěných druhů říše živočišné i rostlinné. Zhruba 80 let poté byla po dalších výzkumech identifikována DNA jako nositelka dědičnosti (O. Avery, C. MacLeod, M. McCarty); tento mezník nastartoval novou éru genetiky - molekulární genetiky.

Molekulární genetiky je poměrně mladá věda, která v současnosti prožívá prudký rozvoj. Důvodem je nejen zájem výzkumníků a investorů, ale zejména vývoj techniky, která pomáhá vidět člověku za hranice jeho vnímání. Uvážíme-li, že pracujeme se živou hmotou a rozměry zkoumaných objektů se pohybují v řádech subnanometrů (10^{-10} m) a množství básových párů u skotu kolem 3 miliard, pak se jistě nelze divit, že je tato vědní disciplína stále v počátcích svého rozvoje.

DNA je tedy indentifikována jako nositelka dědičné informace. Kompletní souhrn všech genů v organismu se nazývá genom. Tato práce se zabývá geny a jejich polymorfizmy související s masnou užitkovostí skotu .

2. Cíl práce

Cílem bakalářské práce je zpracovat literární přehled zabývající se problematikou nejvýznamnějších kandidátních genů pro masnou užitkovost u skotu.

Literární studie zahrnuje dosavadní poznatky a charakteristiku vybraných kandidátních genů, dosud popsané polymorfizmy a jejich vztah ke znakům masné produkce s důrazem na kvalitu hovězího masa. Ze široké škály bylo vybráno a popsáno deset, z autorova pohledu, nejdůležitějších genů, s uvedením jejich charakteristik, funkce v organismu a dosud popsaných polymorfizmů s dopadem na masnou užitkovost. V závěru je shrnuta možnost využití jednotlivých genů pro praktické šlechtění.

3. Literární přehled

3.1 *Popis genomu skotu*

Genetika je věda, která studuje biologickou informaci, tedy věda o dědičnosti. Všechny živé organizmy uchovávají, replikují a přenášejí do další generace určité množství informací nutných k vývoji, růstu, reprodukci a přežití ve svém prostředí. Genetikové se zabývají otázkou, jak organizmy přenášejí biologickou informaci na své potomky a jak ji „používají“ během svého života. Genetika studuje biologicky dědičné vlastnosti, včetně vlastností, jež jsou zčásti ovlivněny prostředím. Molekulární genetika studuje genetickou variabilitu na úrovni molekul nukleových kyselin. Informace je obsažena v různé sekvenci nukleotidových bází v nukleové kyselině (DNA, RNA), která se přenáší (dědí) z generace na generaci somatických buněk a jedinců. Obsahuje informaci o primární struktuře polypeptidů, primární struktuře DNA nebo RNA. Gen nazýváme základní fyzikální a funkční jednotku „dědičnosti“, která nese genetickou informaci z jedné generace do další. Je to segment DNA organizačně složený z transkribovatelných oblastí - strukturální geny, geny kódující funkční RNA a regulačních sekvencí – promotory, centromery a dalších, které se transkripce zúčastňují. Transkribovatelné geny kódují primární strukturu buď funkční molekuly translačního produktu (polypeptid, protein) nebo funkční molekuly produktu transkripce (tRNA, rRNA). Alela je jedna z různých forem genu nebo sekvence DNA, která může existovat na jednom lokusu lišící se v DNA sekvenci nukleotidů a ovlivňující funkčnost jednoho produktu (RNA nebo proteinu). Různé alely téhož genu podmiňují rozdílný projev téhož znaku (např. výskyt dvou barev zelené a žluté u plodu hrachu). Chromozom je struktura, jejíž základ tvoří nukleová kyselina s lineárně uspořádanými geny a dalšími geneticky nefunkčními úseky nukleotidů, to vše napojené na proteiny s různou funkcí. Je nosičem genů. Geny ve chromozomech mají přesnou polohu ve vazbové skupině. Soubor charakteristických a fyziologických znaků a vlastností organismu nazýváme fenotyp. Fenotyp je vnější projev celé genetické informace organismu (genotyp) na jehož vytváření se ve větší či menší míře podílí vliv vnějšího prostředí (Urban, 2016).

Genom představuje soubor genů daného organismu. Celý genom skotu byl sekvenován po šestiletém úsilí v USA v r. 2009. Genom skotu se skládá řádově z desítek tisíc genů, z čehož je 14000 společných s geny příslušníků třídy savci (*Mammalia*). Každý gen má svou úlohu při růstu a vývoji jedince a určuje jeho kvalitativní a kvantitativní vlastnosti. Genetická informace obsažená v jádře somatické buňky je u skotu rozdělena do 60 chromozomů (Snustad and Simmons, 2009).

Kvalitativní vlastnosti fenotypu jedince jsou zpravidla určovány geny s velkým účinkem a dědivost bývá zpravidla vysoká; zatímco kvantitativní vlastnosti bývají řízeny mnoha geny s malým účinkem (tzv. polygeny), navíc výsledný fenotyp je ještě ovlivněn faktory vnějšího prostředí. Při hledání kandidátních genů masné užitkovosti, což je vlastnost kvantitativní, je naším úkolem nalézt úsek DNA, kde se gen(-y) s efektem na hledaný kvantitativní znak nachází, ten se nazývá lokus kvantitativních znaků (QTL; quantitative trait loci), někdy též označovaný jako lokus ekonomicky významných znaků (ETL; economic trait loci), který poukazuje na ekonomický význam dané vlastnosti v chovu hospodářských zvířat (Urban, 2009).

Geny potenciálně ovlivňující některou vybranou vlastnost, se nazývají kandidátní geny neboli markery. Hledání kandidátních genů a identifikace jejich polymorfizmů, asociovaných s masnou užitkovostí skotu přináší výhodu při plemenářské práci. Polymorfizmus genu neboli jednonukleotidový polymorfizmus (SNP; single nucleotide polymorphism) vyjadřuje variabilitu genu. Jejimi zdroji jsou např. náhodná segregace, rekombinace a mutace (Snustad and Simmons, 2009).

3.2 Technika – metoda analýzy polymorfizmu

Jednou z úloh, které molekulární genetika řeší, je určení posloupnosti (sekvencí) bází DNA; tento proces nazýváme sekvenace. Rozpoznání a porovnání sekvencí pak umožní identifikaci polymorfizmů. Z hlediska rozsáhlého objemu dat, které každý gen a vůbec genom skrývá, je limitující zejména rychlost skenu posloupnosti nukleotidů. Jednou ze základních technik genotypizace polymorfizmu v genotypech je metoda PCR-RFLP, proto v následujícím textu bude tato stručně popsána.

3.2.1 PCR – polymerázová řetězová reakce

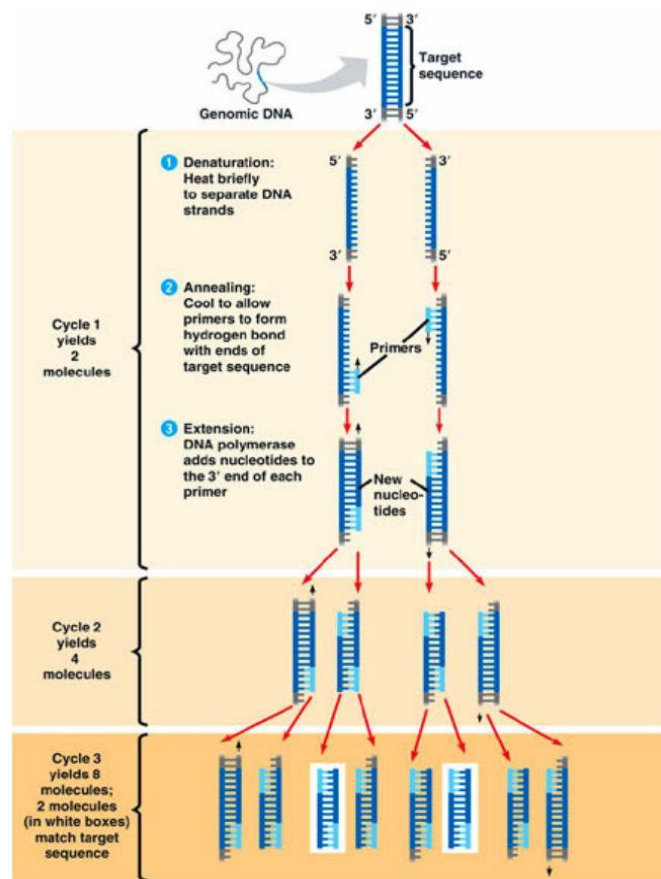
Princip polymerázové řetězové reakce (PCR; Polymerase Chain Reaction) poprvé popsal a publikoval Saiki *et al.* (1985).

PCR je velmi rychlá a jednoduše proveditelná metoda, která slouží k mnohonásobné enzymatické amplifikaci (namnožení) určitého fragmentu DNA v podmínkách *in vitro*. PCR je dnes považována za základní molekulárně genetickou metodu, a to díky svému rozsáhlému využití v mnoha oblastech molekulární genetiky. Je používána např. k přímému klonování genomické DNA a cDNA, k tvorbě rekombinantní DNA, pro genetický fingerprinting v kriminalistice, v lékařství k prenatální diagnostice, k určení přítomnosti cizího genomu infekčního původu, dále k detekci alel polymorfních lokusů před sekvenováním DNA atd. (Snustad and Simmons, 2009).

PCR využívá základních rysů replikace DNA. Jako templát se využívá jednovláknové DNA (ssDNA; single-stranded DNA), podle níž je následně syntetizován komplementární řetězec. Metoda je založena na extenzi primerů, které se připojují na komplementární úseky DNA, a tím zároveň vymezují úsek DNA k amplifikaci. Ke geometrické amplifikaci molekul DNA dochází za cyklického opakování tří kroků lišících se teplotními podmínkami. Dvouvláknová DNA je nejprve denaturována na dvě jednovláknové templátové (matricové) molekuly DNA. Následně oligonukleotidové sondy primery, které hybridizují na obou stranách cílové DNA, řídí syntézu nových vláken. Jejich syntézu katalyzuje termostabilní DNA polymeráza od 5' konce

ke 3'konci vždy začínající od primerů. Během prvního cyklu pokračuje syntéza nového vlákna až za sledovanou sekvenci, ale následné cykly amplifikují převážně pouze úsek mezi dvěma primery. Každý cyklus zahrnuje teplotní denaturaci DNA, připojení primerů (annealing) a syntézu DNA (elongace) - Obr. 1. V každém cyklu se množství DNA zdvojnásobí a tím se zdvojnásobí množství templátu pro následující cyklus, tedy z každé původní molekuly templátu je vytvořeno 2^n kopií, kde n je počet cyklů. Amplifikace je většinou limitována koncentrací substrátů a aktivitou enzymu, její účinnost je odhadována mezi 60–85% (Saiki *et al.*, 1988).

Reakce probíhá v teplotním cyklu, ve kterém dochází v několika cyklech ke střídání teplotních fází potřebných k amplifikaci DNA. Dvouvláknová DNA je denaturována při 90–95°C po dobu 30–60s. První denaturace trvá déle, protože se musí denaturovat celá genomová DNA. Primery nasedají na své komplementární sekvence při nižší teplotě v rozmezí 45–60°C. Doba annealingu je poměrně krátká, pohybuje se okolo 30 s. Taq polymeráza je aktivní při 60–72°C a délka extenze je závislá na celkové délce reakčního produktu (Šmarda *et al.*, 2005).



Obr. 1: Schéma PCR reakce
(http://openwetware.org/wiki/Image:PCR_Pic_1.jpg)

Kromě DNA, která bude amplifikována, obsahuje reakční směs pro PCR další důležité složky (Gazdová, 2007): Primery, Mg^{2+} (přítomnost volného hořčíku je pro PCR nezbytná), K^+ (optimální koncentrace jednomocných iontů), dNTP (2'-deoxy-nukleosid-5'-trifosfáty – dATP, dCTP, dTTP a dGTP) a DNA polymeráza. Optimální koncentrace jednotlivých komponent se stanovuje pro každou polymerázu zvlášť.

Každá metodika (nově sestavená či převzatá z literatury) pro detekci DNA polymorfismu musí projít procesem optimalizace. Optimalizace zahrnuje výběr nejvhodnějších parametrů, které ovlivňují reakci, tj. složení reakční směsi, teplotní a časový průběh reakce (Gazdová, 2007).

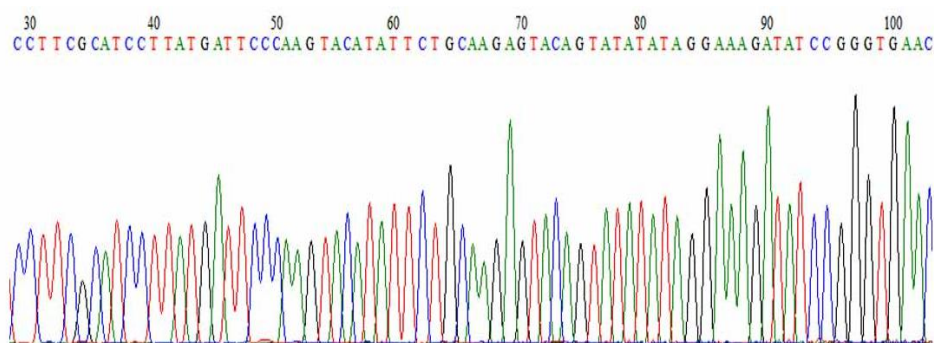
3.2.2 RFLP – polymorfismus délky restrikčních fragmentů

Pomocí polymorfismu délky restrikčních fragmentů (RFLP; restriction fragment length polymorphism) se identifikují alely na základě přítomnosti či absence specifického restrikčního místa. V tomto místě může dojít pomocí příslušné restrikční endonukleázy k rozštěpení genomové DNA. Rozlišovací místo pro endonukleázu je relativně krátké: 4–6 bp. Obecně lze říci, že čím kratší je rozpoznávací sekvence, tím více fragmentů vznikne. Štěpné místo může vznikat nebo zanikat v důsledku substituce, delece nebo inserce. Při následném štěpení vzniknou fragmenty různé délky. Genomová DNA je štěpena danou restrikční endonukleázou a následně separována elektroforézou na agarózovém gelu, vizualizace fragmentů je nejčastěji prováděna použitím ethidium bromidu na UV světle (Sambrook *et al.*, 1989). Metoda RFLP je vhodná pro komparativní i vazbové mapování a k odhalení polymorfizmů v kandidátních genech (Hill, 2007).

3.2.3 Sekvenování

Sekvenování je metoda zjišťování pořadí bází v DNA. Metody sekvenování klasickým způsobem zahrnují dvě metodiky:

- Maxam-Gilbertova, kterou v r. 1977 vyvinuli Allan Maxam a Walter Gilbert. Radioaktivně označený vzorek je štěpen ve čtyřech zkumavkách, výsledek je analyzován na elektroforetickém gelu, Tato metoda se v současnosti již nepoužívá (Snustad and Simmons, 2009).
- Sangerova metoda, která byla představena r. 1977 Frederickem Sangerem a Alanem R. Coulsonem. Zde je vzorek analyzován při replikaci DNA: k jednovláknové DNA (denaturované) je navázán primer (komplementární k začátku sekvenovaného místa), pak je vzorek vystaven směsi deoxynukleotidů a jednoho z dideoxynukleotidu (A, G, C, T), který terminuje replikaci. Proces proběhne ve čtyřech zkumavkách pro čtyři různé dideoxynukleotidy, poté jsou výsledky opět analyzovány na elektroforetickém gelu. Modifikovaná forma Sangerovy metody používá fluorescenčně značené dideoxynukleotidy, proces probíhá v jedné zkumavce, analýza na kapilární elektroforéze, čímž lze sekvenování automatizovat a urychlit. Výstupem je sekvenogram (Obr. 2), délky sekvencí 700bp, chybovost 1.5% (Snustad and Simmons, 2009).



Obr. 2: Výsledný sekvenogram (www.labguide.cz)

3.2.4 NGS – sekvenování nové generace

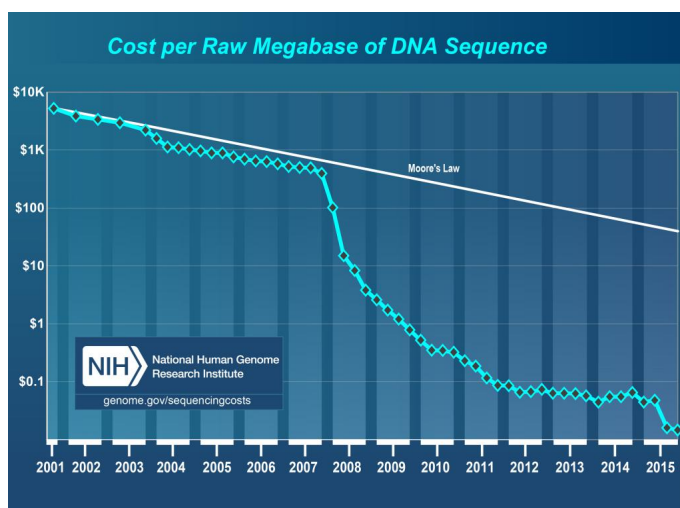
Současné vyráběné sekvenační technologie se obecně nazývají sekvenování nové generace (NGS; next generation sequencing). Tato nová éra sekvenování se začíná psát v r. 1996, kdy Mostafa Ronaghi a Pål Nyren představili nový způsob

detekce navázané báze - analýzou emitovaného záření. Metoda vychází ze Sangerovy metody, avšak místo analýzy elektroforézou je zde snímána aktivita DNA polymerázy, zprostředkovaná chemoluminiscentním enzymem; tato metoda se nazývá pyrosekvenování (<http://www.illumina.com>).

Další nové technologie jsou představovány a jejich cílem je snížit cenu sekvenování, zvýšit rychlost a spolehlivost a zvýšit proces automatizace. Pro srovnání, výkonnost techniky při sekvenování (v bázích za den) byla v roce:

- 1987 1.2 kb (systém ABI370, Sangerova metoda, gelová elektroforéza),
- 1995 135 kb (ABI377, Sangerova metoda, gelová elektroforéza),
- 2001 2.5 Mb (MB4000, Sangerova metoda, kapilární elektroforéza),
- 2008 450 Mb (GS FLX+, NGS),
- 2016 400 Gb (HiSeq 4000, NGS).

Ačli výkony dnešních NGS systémů jsou sice mnohem vyšší oproti klasickým systémům, stále se pro sekvenování menších fragmentů v laboratořích s širším záběrem specializace uplatňují systémy používající klasickou Sangerovu metodu. Nicméně pro sekvenování genomů celých populací je efektivnější využít NGS. Obr. 3 znázorňuje efektivitu sekvenování v závislosti na čase, tak, jak byly dostupné jednotlivé technologie (<http://www.illumina.com>).



Obr. 3: Cena sekvenace miliónu bázových párů (Mbp) (<http://www.genome.gov>)

3.3 Kvalitativní parametry hovězího masa

Masnou užitkovost lze charakterizovat ze dvou aspektů – z hlediska množství vyprodukovaného masa a dále jeho kvalitou.

Kvantitativní parametry masné produkce zvířete určují výkrmnost, což jsou denní hmotnostní přírůstky a účinnost konverze živin. Dále se hodnotí jatečná výtěžnost, definovaná jako poměr jatečně upraveného těla (JUT) a živé hmotnosti před porážkou, která je také součástí tržního klasifikačního systému SEUROP.

Kvalitu masa určuje jednak jeho výživná hodnota a dále jeho fyzikální (křehkost, textura), technologické (pH, schopnost vázat vodu) vlastnosti (objektivně měřitelné), a vlastnosti sensorické (chuť, barva) hodnocené spíše subjektivně. Ke kvalitativním parametrům masa patří i vlastnosti kulinářské, u hovězího masa je také velmi důležité stadium biochemických pochodů (zrání masa) a dále kontaminace nežádoucími agens (těžké kovy, parazité, rezidua léčiv) či nemocemi.

V následujícím textu jsou uvedeny vybrané kandidátní geny a jejich polymorfismy asociované s masnou užitkovostí skotu, s důrazem na kvalitu masa.

Pojem jakost masa lze popsat jako komplex následujících dílčích položek:

1) Sensorické vlastnosti:

- barva
- mramorování (marbling)
- struktura svalových vláken
- chuť
- vůně
- křehkost
- konzistence
- šťavnatost

2) Výživná hodnota:

- obsah bílkovin
- obsah tuků

- obsah vitamínů
- obsah glycidů
- obsah minerálních látek
- obsah stopových prvků
- biologická hodnota

3) Hygienické a toxikologické vlastnosti:

- obsah patogenních zárodků
- pH
- aktivita vody
- redoxní potenciál
- obsah reziduí: antibiotika, hormony, tyreostatika, pesticidy, herbicidy, fungicidy, toxické kovy

4) Technologické vlastnosti:

- schopnost vázat přidanou vodu
- obsah volně vázané vody
- konzistence
- pH
- obsah pojivové tkáně a šlach
- obsah a jakost tuku

Křehkost je ovlivněna obsahem intramuskulárního tuku a stupněm vyzrálosti, objektivně se měří metodou „Warner–Bratzler shear force“ (WBSF), což je síla [N] potřebná ke střížení vzorku masa na stříhoměru. Šťavnatost je ovlivněna intramuskulárním tukem a vazností vody. Barva se měří kolorimetrem v barevném prostoru L^*a^*b dle specifikace CIE (Commission Internationale de l'Eclairage); přičemž L vyjadřuje jas (0..100) a a^*b jsou barevné složky (-60..+60). Postup měření je standardizován (Wulf and Wise, 1999). Chuť a vůně – tento parametr je čistě subjektivní záležitost, liší se dle plemene a pohlaví; ovlivňuje ho i např. skladba krmiva ve výkrmu. U nutričních hodnot týkajících se obsahu tuků se sleduje zejména obsah mastných kyselin a poměr nasycených/nenasycených složek, jejichž seznam je nastíněn v závěru této kapitoly.

Celkový souhrn kvalitativních parametrů masa je vyhodnocován koncovým spotřebitelem, kdy se provedou senzorní testy ochutnáváním výrobku z předem určené části jatečného těla početnému souboru hodnotitelů. Na základě faktu, že většina rysů kvality masa podléhá subjektivním dojmům, je hranice mezi hodnoceními značně rozostřená, zejména to platí pro neškolený panel hodnotitelů. Proto výsledky takovýchto senzorních analýz nebývají v korelaci s hodnocením dle hledaných parametrů (Avilés *et al.*, 2015).

Složení mastných kyselin je důležitý parametr kvality masa, ať už z hlediska jeho chuti či zdraví spotřebitele. Sledují se zejména:

- nasycené mastné kyseliny (SFA; saturated fatty acid),
- mononenasycené mastné kyseliny (MUFA, monounsaturated fatty acids),
- polynenasycené mastné kyseliny (PUFA; polyunsaturated fatty acids),
- C14:0 - kyselina myristová,
- C14:1 - kyselina myristolejová,
- C16:0 - kyselina palmitová,
- C16:1 - kyselina palmitolejová,
- C18:0 - kyselina stearová,
- C18:1 - kyselina olejová.

3.4 Kandidátní geny

Kandidátními geny nazýváme místa na lokusu, potenciaálně svázanými s hledanou, tedy masnou užitkovostí. Polymorfizmem pak konkrétní rozdíl konfigurace bázevého páru mezi dvěma jedinci, mající vliv na sledovanou užitkovost. Jelikož počet dosud známých genů s vlivem na masnou užitkovost skotu je aktuálně již více než 200 (Williams *et al.*, 2009) a jejich polymorfizmů násobících tento počet už snad může být v řádech statisíců, byly vybrány jen některé s podstatným efektem na výše zmiňované ukazatele. Jedná se o tyto geny: *CAST* (calpastatin), *PLAG1* (zing finger 1), *ANK1* (ankyrin 1), *FABP4* (fatty acid binding protein 4), *FASN* (fatty acid synthase), *SCD* (stearoyl-CoA desaturase), *LEP* (leptin), *MSTN* (myostatin), *IGF2* (insulin-like growth factor 2) a *TG* (thyroglobulin).

Informace použité v této práci vztahované ke genům jsou převzaty dle specifikace souboru databáze UMD 3.1.

3.4.1 CAST

Název: Calpastatin

Lokalizace: Chromozom 7, AC_000164.1, pozice 98444826..98581260 (Obr. 4)

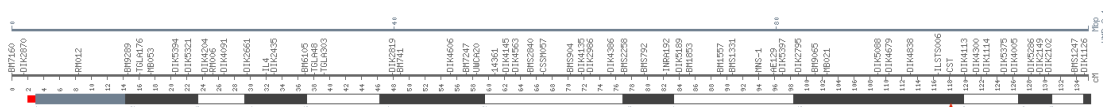
Délka: 136435 bp, 36 exonů

GeneID: 281039

Kóduje protein: protein calpastatin, calpain (calcium-dependent cysteine protease) inhibitor

Ovlivňuje: Zrání masa po porážce, barvu masa.

Funkce: Gen calpastatin kóduje protein, který je mimo jiné inhibitor proteolytických enzymů rodiny calpain. Proteolytické enzymy systému calpain zahrnují více než 10 izoforem, ale nejdůležitější jsou μ -calpain (calpain 1, CAPN1) a m-calpain (calpain 2, CAPN2) a calpain 3 (CAPN3). μ -calpain i m-calpain jsou proteinové součásti centrálního nervového systému a calpain 3 je součástí kosterní svaloviny. Po smrti jedince se snižuje inhibiční efekt calpastatinu. V souvislosti s tím se zvyšuje aktivita enzymů calpain rodiny, které štěpením stavebních bílkovin svalových vláken zvyšují křehkost masa (Mberema *et al.*, 2016).



Obr. 4: Lokalizace genu *CAST* na chromozomu 7 (zde označen CST) (<http://www.animalgenome.org>)

Komparační studie (Mberema *et al.*, 2016) byla provedena mezi býky, jalovicemi a volky (po šesti jedincích) plemene hereford a byla zjišťována korelace mezi obsahem *CAPN1* a *CAPN2* a zvýšenou křehkostí masa (nižší střížná síla, WBSF), dále vzájemné působení *CAPN1* a *CAPN3*. Nejprve byly změřeny hladiny mRNA složek calpain systému ve sledované svalovině (*musculus longissimus thoracis* (LT) a *musculus semimembranosus* (SM)). Tab. 1 ukazuje, že nejnižší hladiny calpastatinu byly nalezeny u býků a jalovic a nejvyšší u volků, zatímco hladina CAPN byla u býků a volů vyšší než u jalovic. Změřené střížné síly v masě u jednotlivých pohlaví po týdenním intervalu jsou seřazeny v Tab. 2. Zde byla střížná síla nejnižší u býků, avšak nej-

vyšší u jalovic. Z uvedeného vyplývá vzájemný vztah mezi CAST, CAPN a WBSF.

Tab. 1: Hladiny CAPN/CAST ve svalech (Mberena et al., 2016)

| Gen | Býci (n=6) | | Jalovice (n=6) | | Volci (n=6) | |
|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| | LT | SM | LT | SM | LT | SM |
| μ -Calpain | 0,10a \pm 0,003 | 0,10a \pm 0,003 | 0,09b \pm 0,003 | 0,09b \pm 0,003 | 0,11a \pm 0,003 | 0,10a \pm 0,003 |
| m-Calpain | 0,09 \pm 0,002 | 0,09 \pm 0,003 | 0,09 \pm 0,003 | 0,09 \pm 0,003 | 0,10 \pm 0,002 | 0,09 \pm 0,003 |
| Calpain-3 | 0,11a \pm 0,003 | 0,11a \pm 0,005 | 0,09b \pm 0,003 | 0,10b \pm 0,004 | 0,11ab \pm 0,003 | 0,10ab \pm 0,004 |
| Calpastatin | 0,09b \pm 0,003 | 0,09b \pm 0,004 | 0,09b \pm 0,003 | 0,09b \pm 0,004 | 0,11a \pm 0,003 | 0,09b \pm 0,004 |

Tab. 2: Křehkost masa vs doba zrání (Mberena et al., 2016)

| Zrání | Býci (n=6) | | Jalovice (n=6) | | Volci (n=6) | |
|--------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | LT | SM | LT | SM | LT | SM |
| 7 dní | 30,03 \pm 2,54 | 36,93 \pm 1,89 | 36,93 \pm 1,89 | 38,87 \pm 1,78 | 31,88 \pm 2,45 | 39,47 \pm 1,82 |
| 14 dní | 25,78 \pm 2,17 | 36,61 \pm 1,30 | 36,61 \pm 1,30 | 38,51 \pm 1,23 | 31,87 \pm 2,09 | 39,34 \pm 1,26 |
| 21 dní | 23,15 \pm 2,03 | 34,74 \pm 1,76 | 34,74 \pm 1,76 | 36,06 \pm 1,66 | 27,40 \pm 1,96 | 36,20 \pm 1,70 |
| 28 dní | 23,80 \pm 1,88 | 30,07 \pm 1,59 | 30,07 \pm 1,59 | 34,87 \pm 1,50 | 25,29 \pm 1,82 | 37,56 \pm 1,53 |
| 35 dní | 23,82 \pm 1,61 | 27,80 \pm 0,96 | 27,80 \pm 0,96 | 34,03 \pm 0,91 | 25,03 \pm 1,55 | 29,65 \pm 0,93 |

Efekt: -pohlaví p=0,001; -svalu: p<0,001; -zrání: p<0,001.

K podobnému závěru dospěl i Barendse *et al.* (2008), který taktéž zkoumal vzájemný vztah *CAPN*, *CAST* a WBSF u tří plemen zebu (*Bos indicus*). Zjistil u jednoho plemene podstatnou (p<0,05) a u ostatních méně silnou interakci *CAST* a *CAPN3*. Nalezené polymorfizmy a jejich projev (alelický efekt α na WBSF, střížnou sílu) jsou uvedeny v Tab. 3. Nejvýznamnější vliv byl zjištěn u SNP c.1538+225G>T u plemene brahman, kdy substituční efekt alely *T* na střížnou sílu byl $\alpha=-0,144$ kg (p=0,016).

Tab. 3: Polymorfizmy *CAST* a *CAPN3* dle Barendse *et al.* (2008)

| Lokus | Plemeno | f_0^1 | Alela 0 | α^2 kg | SE(α) ³ | p(α) ⁴ |
|---------------|------------------|---------|---------|---------------|-----------------------------|----------------------------|
| <i>CAPN3</i> | | | | | | |
| c.53T>G | BRM ⁵ | 0,29 | T | -0,103 | 0,06 | 0,088 |
| c.53T>G | BEL ⁶ | 0,15 | T | 0,089 | 0,044 | 0,046 |
| c.53T>G | SGT ⁷ | 0,2 | T | -0,058 | 0,058 | 0,315 |
| c.1538+225G>T | BRM | 0,52 | G | -0,144 | 0,06 | 0,016 |
| c.1538+225G>T | BEL | 0,92 | G | 0,003 | 0,037 | 0,944 |
| c.1538+225G>T | SGT | 0,78 | G | 0,068 | 0,06 | 0,26 |
| c.2443-103G>C | BRM | 0,29 | G | -0,115 | 0,063 | 0,068 |
| c.2443-103G>C | BEL | 0,15 | G | 0,114 | 0,053 | 0,031 |
| c.2443-103G>C | SGT | 0,16 | G | -0,058 | 0,065 | 0,371 |
| <i>CAST</i> | | | | | | |
| c.2832A>G | BRM | 0,56 | A | -0,113 | 0,061 | 0,064 |
| c.2832A>G | BEL | 0,77 | A | -0,171 | 0,04 | 0,000† |
| c.2832A>G | SGT | 0,7 | A | -0,14 | 0,055 | 0,011 |

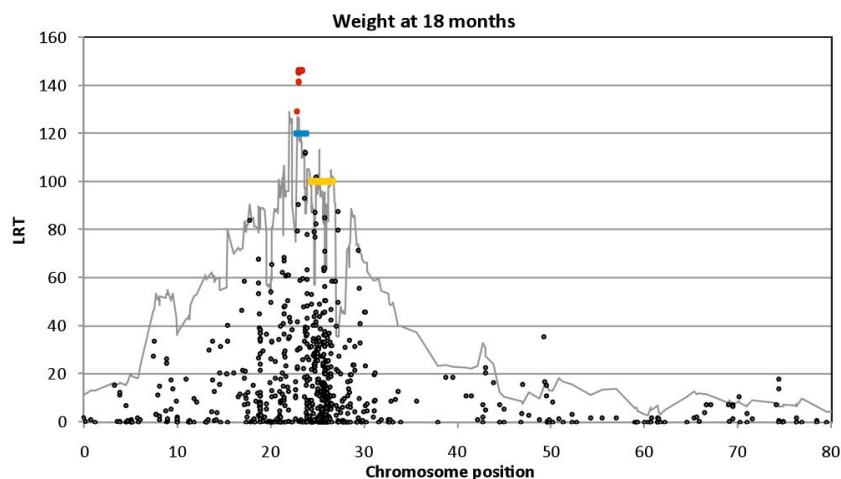
¹Frekvence alely 0, ² efekt substituce alely, ³ standardní odchylka aditivního efektu, ⁴ p-hodnota aditivního efektu, ⁵ BRM Brahman, ⁶ BEL Belmont Red, ⁷ SGT Santa Gertrudis, † P < 0.0001

Lozano *et al.* (2016) studoval SNP u souboru 196 jedinců *Bos taurus*, *Bos indicus* a jejich kříženců; taktéž uvádí kombinovaný efekt *CAST* a *CAPNI* genů pro WBSF (křehkost). Studované polymorfizmy byly identifikovány markery *CAST-T1*, *CAPN316* a *CAPN4751*. Zjistil průkazný vliv původu zvířete na střižnou sílu: *Bos indicus* vykazoval nejvyšší, *Bos taurus* naopak nejnižší WBSF. Výsledkem byla asociace *CAPN316* na křehkost, kdy střižná síla byla nejvyšší u genotypu *GG*, střední u *CG*, zatímco nejnižší pro *CC* a *CAPN4751*, kdy nejvyšší střižnou sílu vykazoval genotyp *TT* nad *CC* a *CT*.

Byla provedena studie na stádu 628 příslušníků plemen angus, limousin, charolais a simentál (Schenkel *et al.*, 2007). Polymorfizmus samotného *CAST* g.282C>G byl asociován s křehkostí masa, kdy genotyp *CC* vykazoval křehčí maso než genotypy *CG* a *GG*. Naproti tomu Reardonovi *et al.* (2010) se u studie 130 kusů kříženců nepodařilo tuto asociaci prokázat. Ani u 162 býků plemene ČESTR (Koubová, 2012), kdy byla provedena kontrola vlivu samotného *CAPNI* na výslednou křehkost masa, nebyl zjištěn prokazatelný vliv tohoto genu. V jiné studii byla zjištěna dokonce opačná korelace, i když na nízké hladině významnosti, kdy Gandolfi *et al.* (2011) prokázal zvyšující se tuhost masa u prasat s nárůstem exprese *CAPN3*. Ukazuje se tedy, že bude potřeba dalších studií pro poznání interakčního vlivu složek calpastatin a calpain systému.

Další kvalitativní projev polymorfizmu calpastatinu je zbarvení masa. Castro *et al.* (2016) poukázala na vliv calpain systému na zbarvení masa, čímž potvrdila hypotézu, že je zbarvení podstatnou měrou dáno také geneticky. U markeru *CAST282* má genotyp *CC* bledší barvu než genotyp *GG*; genotyp *AA* u markeru *CAST2959* vykazuje světlejší barvu než genotyp *GG*.

Taktéž byl potvrzen vliv SNP c.257G>C genu *CAST* na barvu masa (Reardon *et al.*, 2010), se stejnými výsledky: genotyp *GG* vykazuje tmavší barvu než *CC*. V další studii, kdy bylo genotypizováno 243 jedinců plemen angus, charolais, hereford, limousin, simentál, se vliv polymorfizmu *CAST* c.155C>T sice neprokázal, ale byl prokázán vliv *CAPNI* c.947G>C 6 dní *post mortem* (Li *et al.*, 2013). Podobně, jako u křehkosti, je potřeba pohlížet na systém calpain a calpastatin komplexně.



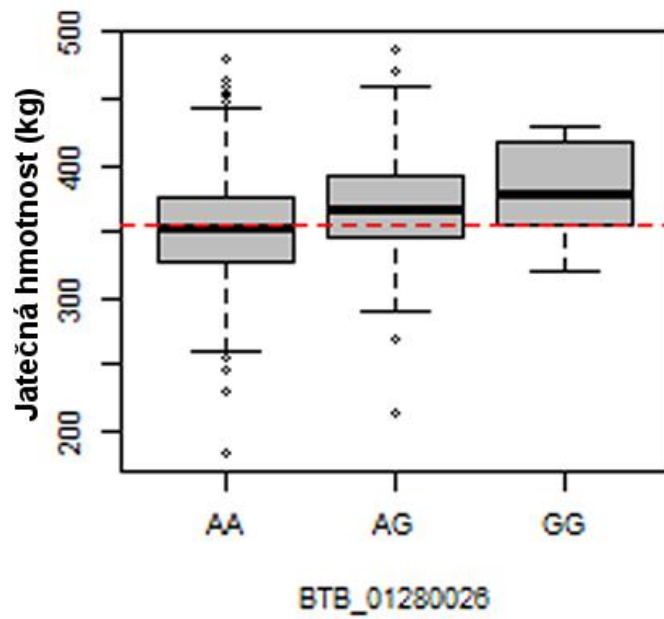
Obr. 6: Vliv pozice na chromozomu na hmotnost v 18 měs. (Karim et al., 2011)

Další navazující výzkum širší genomové asociace provedl Nishimura et al. (2012) po výběru ze 27500 vzorků plemene wagyu a zúžil QTL subdoménu chromozomu 14, přičemž určil *PLAG1* jako kandidátní gen velikosti tělesného rámce a tedy i *pro* porážkovou hmotnost.

Komplexnější výzkum byl proveden u výběru z 8199 vzorků australských plemen, a to jak druhu *Bos taurus*, *Bos indicus* i jejich tropické linie (Fortes et al., 2013). Byl zkoumán SNP rs109231213 s nálezy průkazné asociace: *Bos taurus* – porodní hmotnost, hmotnost v šesti měsících a porážková hmotnost, výška v kohoutku po šesti měsících, snížení obsahu intramuskulárního tuku; *Bos indicus* – hmotnost v šesti měsících a porážková hmotnost, obsah IGF1 v krvi. Asociaci polymorfizmu rs109231213 genu *PLAG1* s porodní hmotností potvrdil též Camargo et al. (2015) u vzorku 1021 býků na hladině $p < 0.001$.

Další široká genomová studie (Lee et al., 2013) objevila další polymorfismus, BTB-01280026 genu *PLAG1*. Jeho fenotypový projev je graficky vyobrazen na Obr. 7, kde je vidět, že projev genotypu *GG* vykazuje podstatně vyšší jatečnou hmotnost.

Zajímavé na této studii je, že byla prováděna na plemeni hanwoo, které je považováno za kulturní dědictví Koreje; jeho maso má výrazný marbling (z anglického j. mramorování) a je ceněno pro svou lahodnou chuť (Obr. 8). Jak je naznačeno v předchozí studii (Fortes et al., 2013), s genem *PLAG1* bylo asociováno také množství intramuskulárního tuku a je pravděpodobné, že další výzkum objeví další SNP spojené se sensorickými vlastnostmi masa tohoto plemene.



Obr. 7: Projev SNP BTB_01280028 na jatečné hmotnosti (Lee et al., 2013)



Obr. 8: Vzhled masa plemene hanwoo - silný marbling
 (<https://babowaegukin.wordpress.com/2013/12/18/korean-beef-hanwoo>)

3.4.3 ANK1

Název: Ankyrin 1

Lokalizace: Chromosome 27, AC_000184.1, pozice (36255865..36393786)
(Obr. 9)

Délka: 137922 bp, 46 exonů

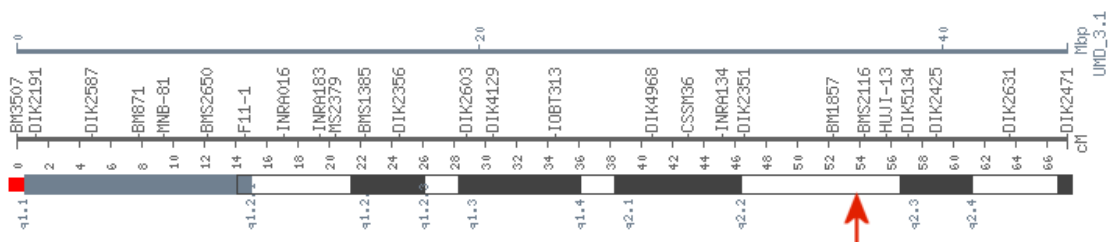
GeneID: 353108 (BTA:353108)

Kóduje protein: Ankyrin 1

Ovlivňuje: Křehkost, barvu masa

Funkce: Ankyriny jsou strukturální bílkoviny, které jsou základní součástí cytoskeletu. Jsou rodinou proteinů, které spojují membránové proteiny k spektrin-aktinovému cytoskeletu a které tvoří ve svalech vysoce komplexní propojovací síť mezi myofibrilami, sarkolemami a též sarkoplazmatickými retikulami (Porter *et al.*, 2005).

Ankyrin obsahuje regulační doménu, která je citlivá vůči proteolýze. Ankyrin je známým cílem kalpainového systému, který byl popsán jako jeden z fundamentálních mechanismů *post mortem* proteolýzy a následného zkrěhnutí masa. Degradace klíčových myofibrilárních proteinů a cytoskeletu způsobuje rozrušení jejich pevné vazby a v důsledku snížení tuhosti masa (Koohmaraie, 1996).



Obr. 9: Lokalizace genu *ANK1* na chromozomu 27 (<http://www.animalgenome.org>)

Poslední výzkumy zařadily *ANK1* jako kandidátní gen ovlivňující kvalitu masa a je přiřazen ke QTL zodpovědných za křehkost, intramuskulární tuk a schopnost vázat vodu (Casas *et al.*, 2003 in Aslan *et al.*, 2010).

Bylo nalezeno 5 SNP v promotoru *ANK1* v úseku 1110 bp u 45 jedinců plemen angus, charolais a limousin (Aslan *et al.*, 2010). Byla provedena jejich asociace s vlastnostmi masa a bylo zjištěno, že ss275515731, ss275515733 a ss275515735 mají prokazatelný vliv na křehkost, texturu a jemnost masa, ss275515734 ovlivňuje tuhost a texturu.

Další polymorfismus byl detekován v regulační oblasti *ANK1*: NW_001494427.3 (Oliveira *et al.*, 2014). Bylo genotypizováno 600 býků a byla zjištěna významná asociace polymorfizmu s barvou masa. Genotyp *BB* má sytější červenější maso než genotyp *AA* a *AB*.

Další studie nových polymorfizmů genu *ANK1* byla provedena na 32 jedincích krav plemene charolais (Horodyska *et al.*, 2015) a bylo nalezeno 18 SNP. Poté bylo znovu genotypizováno dalších 158 kříženců *Bos taurus*, data byla analyzována softwarem (zpracování dat „*in silico*“) a výběr polymorfizmů spojených s kvalitou masa byl zúžen na 3: cSNP6 (ss831883158), cSNP14 (ss831883165) a cSNP17 (ss831883168). Výsledná průkazná asociace ($p < 0.05$) je u cSNP6 s texturou masa, kdy genotyp *CC* vykazuje vyšší marbling skóre než genotyp *TT* a u cSNP17 se šťavnatostí, kdy genotyp *CC* je asociován se šťavnatějším masem než genotyp *TT* (Tab. 4).

Tab. 4: Asociace SNP s kvalitou masa (Horodyska *et al.*, 2015)

| SNP | Vlastnost | p-hodnota | Hodnota pro genotyp: | | |
|--------|-----------------------|---------------|----------------------|------------------|-------------------|
| | | | CC n = 97 | CT n = 51 | TT n = 10 |
| cSNP6 | Ztráty vařením - LTL | 0,0594 | 30,84 ± 0,36 | 31,59 ± 0,45 | 29,97 ± 0,83 |
| | Tuhost - SM | 0,0609 | 5,64 ± 0,08 | 5,70 ± 0,10 | 5,25 ± 0,19 |
| | Textura - SM | 0,0476 | 3,54 ± 0,09 | 3,62 ± 0,11 | 3,11 ± 0,21 |
| | | | AA n = 1 | AG n = 25 | GG n = 131 |
| cSNP14 | Délka sarkomeru - LTL | 0,0695 | – | 2,00 ± 0,06 | 2,12 ± 0,04 |
| | Ztráty vařením - SM | 0,0872 | – | 32,73 ± 0,58 | 33,71 ± 0,37 |
| | | | AA n = 4 | AG n = 56 | GG n = 98 |
| cSNP17 | Šťavnatost - SM | 0,037 | 5,02 ± 0,40 | 4,43 ± 0,16 | 4,80 ± 0,14 |
| | Tuhost - SM | 0,0767 | 5,15 ± 0,25 | 5,74 ± 0,10 | 5,63 ± 0,09 |
| | Textura - SM | 0,0541 | 2,96 ± 0,28 | 3,66 ± 0,11 | 3,54 ± 0,09 |

3.4.4 FABP4

Název: Fatty acid binding protein

Lokalizace: Chromosome 14, AC_000171.1, pozice 46833665..46838053

Délka: 4389 bp, 4 exony

GeneID: 281759 (BTA:281759)

Kóduje protein: Fatty acid binding protein 4, protein vázající mastné kyseliny

Ovlivňuje: Chuť masa – složení mastných kyselin.

Funkce: Tento gen (Obr. 10) kóduje vázebný protein pro mastné kyseliny (FABP; fatty acid binding protein), neboli adipocyt protein, který se exprimuje zejména v tukových buňkách. Vazebné proteiny mastných kyselin tvoří rodinu malých, vysoce konzervovaných, cytoplazmatických proteinů vážících mastné kyseliny s dlouhým řetězcem a další hydrofobní ligandy. Předpokládá se, že k úkolům těchto proteinů patří příjem mastných kyselin, transport a metabolismus (Kaikaus *et al.*, 1990).

Komplex proteinů vážících mastné kyseliny zahrnuje podskupinu čtyř bílkovin, FABP1, FABP3, FABP4, FABP5, jejichž funkce byla původně považována za tkáňově specifickou, avšak prokázalo se, že jejich výskyt i funkce je rozprostřen po celém organismu (Samulin *et al.*, 2008). Jejich funkce se tedy vzájemně ovlivňují, navíc jejich exprese je korelována s *PPARA* a *PPARG* (peroxisome proliferator-activated receptors alpha a gamma).

Prozatím největším středem pozornosti je FABP4, jehož regulační účinek je nejvíce prozkoumán. Byly nalezeny dva polymorfizmy: g.7516G>C a g.7713G>C (Michal *et al.*, 2006). Genotypizace byla provedena na souboru 246 jedinců kříženců plemen wagyu × limousine. Byl zjištěn vliv SNP g.7516G>C na marbling i vrstvu podkožního tuku na hladinách významnosti $p < 0,05$: genotyp *GG* vykazoval větší marbling skóre i vrstvu hřbetního tuku oproti genotypům *CC* a *CG*.

Podobný experiment byl proveden i na 202 jedincích kříženců našeho plemene českého strakatého skotu ČESTR (Kaplanová, 2012), avšak zde nebyla nalezena statistická průkaznost asociace SNP g.7516G>C s množstvím tuku; avšak z hlediska zastoupení jednotlivých genotypů to nebyl statisticky významný vzorek (frekvence

CC-CG-GG = 0,93-0,07-0).

Další práce ohledně SNP g.7516G>C však přinesla obrat: studiem skladby tuku byla zjištěna průkazná asociace polymorfizmu se obsahem některých složek tuku u 33 býků plemene aberdeen angus a akvitánský plavý (Dujková *et al.*, 2015). Genotyp GG vykazoval průkazně vyšší podíl nenasycených (C14:1, C18:2) mastných kyselin oproti genotypu CC a CG.

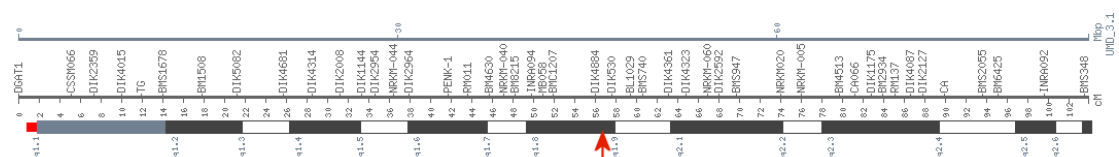
SNP c.220A>G (I74V) byl objeven na druhém exonu při sekvenování 24 nepříbuzných jedinců korejského skotu a byla nahlášena jeho zdánlivá asociace s množstvím bederního podkožního tuku (Cho *et al.*, 2008).

Další práce prokázala asociaci SNP c.220A>G s obsahem kyseliny palmitolejové C16:1 (p=0,0086) u 234 jedinců plemene japonského černého skotu wagyu (Hoashi *et al.*, 2008).

Následný výzkum u 200 jedinců volků plemene holštýnského skotu potvrdil průkaznou asociaci SNP c.220A>G s tukovou komponentou kyselinou palmitovou C16:0 na hladině významnosti p<0,05 (Narukami *et al.*, 2011).

Na druhé straně, v České Republice byl proveden další výzkum na stádě čítajícím 679 býků plemene strakatého skotu typu simentál (Bartoň *et al.*, 2016). Zde se neprokázala u SNP c.220A>G ani souvislost se složením tuku zvířat, ale ani s obsahem intramuskulárního tuku.

Další dva polymorfizmy byly objeveny v promotoru genu FABP4: g.-295A>G a g.-287A>G při studiu holštýnského (206 jedinců) a japonského skotu (556+448 jedinců volků a jalovic). Signifikantní vliv polymorfizmu g.-295A>G byl prokázán pouze u jednoho stáda japonského skotu, a to na porážkovou hmotnost, marbling skóre a obsah kyseliny linolové C18:2 (Matsumoto *et al.*, 2014).



Obr. 10: Lokalizace genu *FABP4* na chromozomu 14 (<http://www.animalgenome.org>)

3.4.5 FASN

Název: Fatty acid synthase gene, gen pro syntázu mastných kyselin
Lokalizace: Chromosome 19, AC_000176.1, pozice 51384892..51403614
Délka: 18723 bp, 42 exonů
GeneID: 281152 (BTA:281152)
Kóduje protein: Enzym syntázy mastných kyselin
Ovlivňuje: Chuť masa – složení mastných kyselin.

Funkce: Syntáza mastných kyselin je multifunkční enzymatický komplex, který katalyzuje *de novo* syntézu dlouhých řetězců nasycených mastných kyselin z acetyl-CoA a malonyl-CoA (Zhang *et al.*, 2008; Abe *et al.*, 2009). Vlastní funkční enzym je homodimer složený z 250 kDa podjednotek (Roy *et al.*, 2005). V tukové tkáni katalyzuje FASN syntézu C14:0 (kyselina myristová) a C16:0 (kyselina palmiová), podílí se však i na jiných intermediátech. FASN je komplex složený z několika polypeptidů – domén (Smith *et al.*, 2003). Thioesterázová (TE) doména uvnitř komplexu FASN je zodpovědná za ukončení syntézy mastných kyselin a uvolnění nově vzniklé nasycené mastné kyseliny a předpokládá se tedy, že polymorfismy lokalizované v této doméně mohou mít vliv na složení mastných kyselin hovězího masa, především z hlediska délky výsledné mastné kyseliny (Zhang *et al.*, 2008).

Gen FASN je díky své pozici (Obr. 11) i funkci považován za kandidátní gen, a to jak pro obsahové procento tuku, tak pro složení tuku v mléce i mase (Schennink *et al.*, 2009).

SNP g.841G>C, nacházející se na 1. exonu, popsal Roy *et al.* (2006) u holštýnského plemene, a tento polymorfismus vykazoval asociaci s obsahem tuku v mléce. Další asociace ohledně tohoto polymorfismu prokázala širší genomová studie 1462 vzorků plemene japonského černého skotu a 195 plemene holštýnského (Hayakawa *et al.*, 2015). Byla nalezena statisticky významná asociace SNP g.841G>C s obsahem C14:0, C16:0 a C18:1 v mase.

SNP g.13126T>C (exon 24) byl poprvé popsán, aniž by byl zaznamenán jeho fenotypový efekt, u plemene japonského černého skotu (Abe *et al.*, 2009). Další studií

513 jedinců korejského plemene hanwoo však byly prokázány asociace SNP s marbling skóre a také se zastoupením mastných kyselin C14:0, C16:0, C18:1, C18:2, C18:3 (kyselina myristová, palmitová, olejová, linolová a linolenová) - (Oh *et al.*, 2012). Nicméně jiná studie provedená na dvou populacích japonského a jedné populaci holštýnského skotu tuto asociaci nepotvrdila (Hayakawa *et al.*, 2015).

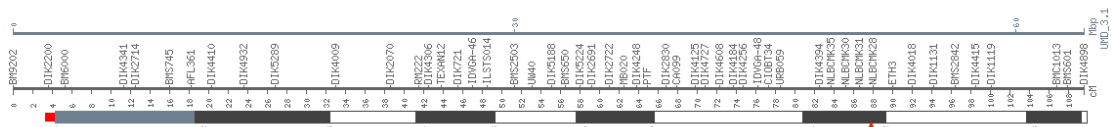
SNP g.15532C>A na exonu 34 poprvé popsal rovněž Abe *et al.* (2009) a také byla nalezena asociace s hladinami mastných kyselin C14:0, C16:0, C18:1 a marbling skóre u příslušníků plemene hanwoo (Oh *et al.*, 2012). Další studie prokázala signifikantní asociaci tohoto polymorfizmu s kyselinou linolenovou C18:3 (Yeon *et al.*, 2013). I zde však poslední studie tuto asociaci nepotvrdila (Hayakawa *et al.*, 2015).

SNP g.16024A>G na 34. exonu genu *FASN* byl asociován s mléčným tukem (Roy *et al.*, 2006); analýza profilu mastných kyselin byla provedena na dvou populacích japonského a jedné populaci holštýnského skotu. Vzorky byly odebrány ze zadní kýty, z LT svalu a mezi sedmým a osmým žebrem; i u tohoto polymorfizmu se zjistila významná asociace s mastnými kyselinami C14:0, C14:1, C16:0, C16:1, C18:1 s průkazností $p < 0,05$ (Abe *et al.*, 2009). Podobné výsledky byly vypořádovány i u plemene japonského, avšak vůbec se neprokázaly pro plemeno holštýnského skotu (Hayakawa *et al.*, 2015). Další testování na souboru 679 býků strakatého evropského strakatého plemene simentálského typu (smíšená užitkovost) potvrdilo asociaci pro C14:0, C16:0 a C18:1 i pro tato plemena (Bartoň *et al.*, 2016).

SNP g.16039T>C na 34. exonu byl zjištěn při studiu složení mastných kyselin tuku japonského skotu (Abe *et al.*, 2009), jeho vliv na složení byl stejný jako u předchozího SNP g.16024A>G a poslední studie určila vysoké LD (linkage disequilibrium; vazebná nerovnováha) mezi g.16039T>C a SNP g.16024A>G (Hayakawa *et al.*, 2015).

SNP g.17924A>G na 39. exonu byl poprvé určen u japonského skotu (Abe *et al.*, 2009) a jeho asociace s masnou užitkovostí byla poprvé prezentována u plemene hanwoo (Oh *et al.*, 2012). Byl zjištěn vliv na složení mezisvalového intermuskulárního tuku z hlediska mastných kyselin C14:0, C16:0, C18:1, kdy genotyp *AA* vykazoval vyšší hladiny C14:0 a C16:0 a nižší C18:1 oproti *GG* a *AG*. Taktéž byl významný efekt u podkožního tuku a marblingu, kdy jedinci s genotypem *AA* měli vyšší vrstvu tuku a nižší marbling skóre. Výsledky byly potvrzeny u studie 90 jedinců mladých

kastrátů plemene hanwoo s obdobnými výsledky pro popsané mastné kyseliny (Yeon *et al.*, 2013). Rovněž u komerčně chovaných kříženců ČESTR, charolais a limousine u našich českých stád byla prokázána stejná souvislost pro 14-ti, 16-ti a 18-ti uhlíkaté komponenty tuku (Kaplanová *et al.*, 2013). Tyto výsledky korelují s výsledky další studie u 679 býků plemene ČESTR: C14:0, C14:1, C16:0, C18:1 vykazující stejný trend jako u všech předchozích studií (Bartoň *et al.*, 2016).



Obr. 11: Lokalizace genu *FASN* na chromozomu 19 (<http://www.animalgenome.org>)

3.4.6 SCD

Název: Stearoyl-CoA desaturase gene, gen pro stearoyl-CoA desaturázu

Lokalizace: Chromosome 26, AC_000183.1, pozice 21137945..21148317
(Obr. 12)

Délka: 10373 bp, 4 exony

GeneID: 280924 (BTA:280924)

Kóduje protein: Enzym stearoyl-CoA desaturáza

Ovlivňuje: Profil mastných kyselin, nenasycených.

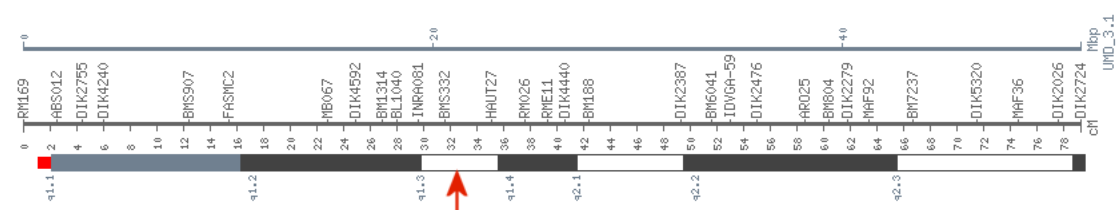
Funkce: Gen *SCD* (také označovaný *SCD1*, stearoyl-CoA desaturase 1 nebo delta-9-desaturase) - kóduje stejnojmenný enzym stearoyl-CoA desaturázu (SCD; stearoyl-CoA desaturase), který v organismu katalyzuje konverzi nasycených mastných kyselin na nenasycené a hraje klíčovou roli v organismu při tvorbě tuku. U savců má několik izoforem, přičemž u skotu jsou pouze dvě, *SCD1* a *SCD5*. Enzym *SCD* se vyskytuje především v tukové tkáni, méně také ve svalovině a u krav v mléčné žláze (Bartoň *et al.*, 2010).

Hlavním substrátem enzymu *SCD1* jsou nasycené mastné kyseliny C10:0 až C18:0. Dalším produktem desaturázy je C18:2 linoleová kyselina, esenciální pro lidskou výživu. Úroveň exprese *SCD* v organismu je ovlivňován složením krmné dávky; zvýšením podílu jádrných krmiv se hladina zvýší (Pérez-Juan *et al.*, 2014). Nicméně *SCD* není jediným genetickým faktorem ovlivňujícím složení tuku, ale je pouze součástí enzymatického komplexu, kam patří i *FASN*, nebo regulátor *SREBP-1* (sterol regulatory element binding protein-1) (Hoashi *et al.*, 2008). Zajímavou asociací kandidátních genů s organoleptickými (chuťovými) vlastnostmi masa provedl Avilés *et al.* (2015). Vzorke 161 býků plemen charolais, limousin a kříženců retinty nechal posoudit panelem 500 konzumentů. Prokazatelně kladně byla hodnocena křehkost plemene limousine u heterozygotního genotypu *CT* genu *SCD* nad homozygotními *CC* a *TT* po 21-denním zrání masa.

Studii ohledně tohoto genu provedl Taniguchi *et al.* (2004) na 1003 jedincích japonského černého plemene. Identifikovaný polymorfismus c.878T>C (V293A)

na 5. exonu byl asociován s obsahem nenasycených mastných kyselin. Genotyp *AA* měl průkazně vyšší obsah než genotypy *VV* a *AV*. Frekvence genotypů u tohoto stáda skotu byla *AA-VA-VV* rovna 0,28-0,63-0,09. V souvislosti se zvýšeným obsahem nenasycených mastných kyselin byl zaznamenán i bod tání tuku: u genotypu *AA* byl o 2,2 °C nižší než u *VV*. Opakovaná studie tohoto polymorfizmu u 200 jedinců holštýnského skotu poukázala na signifikantní vliv na složení tuku, konkrétně kyselin C14:0, C14:1, C18:0 a C18:1 (Narukami *et al.*, 2011). Genotyp *AA* vykazoval nižší zastoupení SFA (saturated fatty acid, nasycených mastných kyselin): C14:0, C18:0 a vyšší zastoupení MUFA (monounsaturated fatty acid, mononenasycených mastných kyselin) C14:1 a C18:1. Frekvence genotypů byla *AA-AV-VV* = 0,5-0,41-0,09. Na stádu 331 kříženců v českých chovech (Kaplanová *et al.*, 2013) byl zjištěn signifikantní vliv na C14:1, kdy genotyp *AA* vykazuje nárůst MUFA o 73 % nad genotypem *VV*. Frekvence genotypů *AA-VA-VV* je 0,28-0,59-0,13. Naproti tomu další studie provedená u 17 býků plemene aberdeen angus a 16 jedincích blonde d'aquitaine neprokázaly signifikantní vliv tohoto polymorfizmu (frekvence *AA-VA-VV* = 33-46-21 %) (Dujková *et al.*, 2015). Výsledky, ač neprůkazné, naopak ukazovaly vyšší obsah MUFA u heterozygotů a celkový obsah SFA byl nejvyšší u genotypu *AA*. Taktéž v jiné studii genotypu 845 jedinců plemen hereford, angus, limousin a jejich kříženců, zaměřené na kvalitu masa spojenou s depozicí tuku, nezjistila průkaznou asociaci polymorfizmu *SCD* (Mazzucco *et al.*, 2016). Technologické vlastnosti masa – marbling, barvu a schopnost vázat vodu zjišťovala studie u 243 býků plemen angus, charolais, limousin, hereford a simental. Pro polymorfizmus c.878T>C byla zjištěna výrazná asociace ($p < 0,01$) s barvou masa: v systému L*a*b ovlivňuje složky a, b a chrominance. Genotyp *AA* má tmavší červené maso oproti genotypu *VV* (Li *et al.*, 2013).

SNP c.702G>A identifikoval Taniguchi *et al.* (2004), jeho vliv však zkoumal až Reardon *et al.* (2010). Zjišťoval však pouze technologické vlastnosti, SNP c.702A>G asocioval s barvou masa. Heterozygotní genotyp *AG* vykazoval sytější červenější, kdežto *AA* bledší barvu, frekvence minoritní alely *G* = 0,39.



Obr. 12: Lokalizace genu *SCD* na chromozomu 26 (<http://www.animalgenome.org>)

3.4.7 LEP

Název: Leptin

Lokalizace: Chromosome 4, AC_000176.1, pozice 93249803..93266625
(Obr. 13)

Délka: 16823 bp, 3 exony

GeneID: 280836 (BTA:280836)

Kóduje protein: Hormon leptin

Ovlivňuje: Příjem potravy – tučnost masa, porážkovou hmotnost

Funkce: Leptin je produkt genu „obezity“ - genu *LEP*. Tento gen je expri-mován převážně v adipocytech – bílých tukových buňkách – a produkt je dále krevním oběhem distribuován až k neurálním snímačům v hypothalamu. Tento gen, spolu se svým komplementem, *ghrelinem* (*GHRL*) „genem hladu“, vytváří rovnováhu v energetickém systému organismu. Leptin funguje jako lipostatický signál, regulující tělesnou hmotnost, příjem potravy, výdej energie, reprodukci a některé imunitní funkce organismu (Nkrumah *et al.*, 2005).

Hlavní funkcí leptinu je informovat centrální nervový systém o velikosti energetických (tukových) rezerv a tím řídit příjem krmiva, nicméně plně to platí při energetické rovnováze; pokud výdej energie převyšuje příjem, hladina leptinu se sníží a naopak (Bartha *et al.*, 2005 in Passos *et al.*, 2007). Exprese genu *LEP* je tedy závislá na příjmu potravy a jejím složení, obsahu hormonů v těle, krmných dávkách a energetické rovnováze, fyziologickém cyklu organismu, faktorech prostředí, aktuálním a předchozím nutričním stavu (Chilliard *et al.*, 2005 in Passos *et al.*, 2007). Bylo též zjištěno, že leptin specificky blokuje RNA hladinu a enzymatickou aktivitu SCD1 transkriptu (Cohen *et al.*, 2002). Tento objev předpovídá, že regulace SCD1 může být dalším důležitým regulačním prvkem metabolismu leptinu.

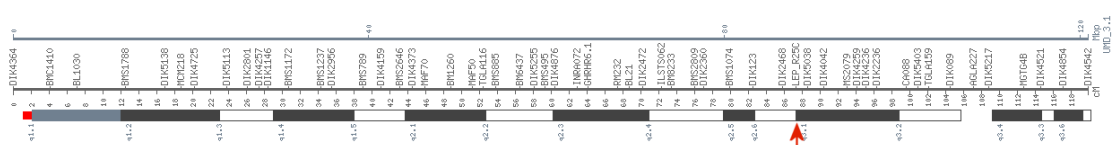
SNP g.73C>T popsal Buchanan *et al.* (2002) a zjistil jeho asociaci s obsahem tuku v jatečném těle. Další asociační studií na ve španělských komerčních chovech o počtu 286 jedinců se neprokázal vliv genotypu tohoto SNP ani na hřbetní ani na me-zisvalový tuk (Avilés *et al.*, 2013).

SNP g.528C>T (UASMS2) se nachází v nekódující části - v promotoru genu *LEP*. Studie na 150 jedincích kříženců angus, hereford a charolais poukázala průkazný vliv polymorfizmu na hladinu leptinu, výšku hřbetního tuku a marbling skóre – genotyp *TT* vykazoval vyšší hodnoty než *CC* a *CT* (Nkrumah *et al.*, 2005). Dále se zjistil u genotypu *TT* vyšší příjem potravy, větší denní přírůstek a vyšší hmotnost před porážkou než u genotypu *CC*. Další výzkum obsahu tuku ve svalovině byl proveden na 86 býčích plemene angus (Anton *et al.*, 2011), kdy sice nebyl prokázán vliv na obsah tuku ve svalovině *musculus longissimus dorsi*, avšak byl průkazně nalezen rozdíl tučnosti v *musculus semitendinosus*: genotyp *TT* vykázal 12,52% tučnost oproti *CC*, u kterého bylo naměřeno 8,88 %. Naproti tomu studie na 1111 jedincích z komerčních chovů podobných plemen však nedokázala tyto výsledky průkazně potvrdit (Schenkel *et al.*, 2005). Taktéž opětovná studie tohoto SNP z pohledu křehkosti, která je svázána s mezisvalovým tukem, nepřinesla žádné prokazatelné výsledky (Ekerljung *et al.*, 2012).

SNP UASMS3, tj. g.1759C>G (a zároveň UASMS1 – g.207C>T, LD = 1) má stejné více či méně průkazné vlastnosti jako UASMS2, neboť jsou oba dva ve vysoké vazebné nerovnováze (LD). Genotyp *GG* vykazuje vyšší hladinu leptinu, výšku hřbetního tuku i porážkovou hmotnost než *CC* (Nkrumah *et al.*, 2005). Další studie potvrdila průkazný vliv pouze na výšku hřbetního tuku (Schenkel *et al.*, 2005).

Tři SNP: g.978C>T, g.3100C>T spolu s g.3157A>G byly asociovány se složením mastných kyselin a byl vyhodnocen vzájemný vztah hladin *LEP* a *SCD1* (Orrù *et al.*, 2011). Jak bylo výše uvedeno, byla zjištěn vzájemný vliv *LEP* a *SCD1* produktů, kterou tato studie na 103 býčích simentálského typu potvrdila. Tyto polymorfizmy průkazně ovlivňují desaturaci SFA na MUFA a související profil mastných kyselin.

SNP g.2418C>G a g.2423G>A byly identifikovány v promotoru genu u plemene hanwoo (Chung *et al.*, 2008). Heterozygotní genotypy *CG*, resp. *GA* vykázaly vyšší vrstvu hřbetního tuku oproti homozygotním genotypům. Navíc byl prokázán dominantní efekt. Ovšem vliv na živou hmotnost a marbling skóre se neprokázal.



Obr. 13: Lokalizace genu *LEP* na chromozomu 4 (<http://www.animalgenome.org>)

3.4.8 *MSTN (GDF8)*

Název: Myostatin

Lokalizace: Chromosome 2, AC_000159.1, pozice 6213566..6220196

Délka: 6631 bp, 3 exony

GeneID: 281187 (BTA:281187)

Kóduje protein: Růstový faktor myostatin

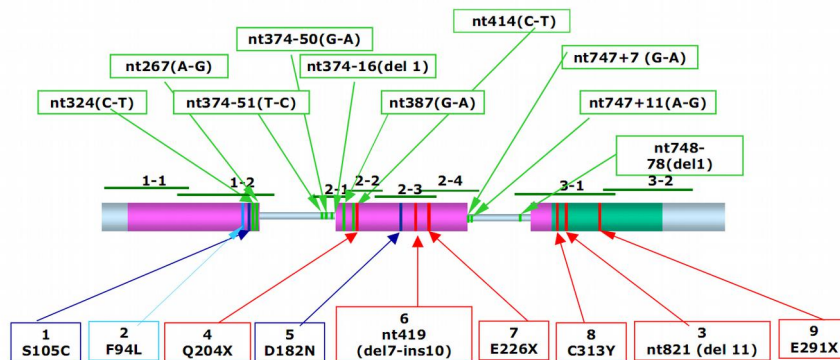
Ovlivňuje: Složení a výtěžnost masa – tuku

Funkce: Gen *myostatin*, také známý jako *GDF8* (growth differentiation factor 8), je lokalizován na 2. chromozomu skotu (BTA2); zahrnuje tři exony a dva introny. Myostatin se specificky exprimuje ve svalové tkáni, a to jak během embryonálního vývoje, tak i v dospělosti. Funguje jako negativní regulační protein. U některých plemen skotu (piemontese, belgické modré a akvitánský plavý a další) se projevují polymorfizmy tohoto genu, které nazýváme double-muscle (dvojitě osvalený) fenotyp (Grisolia *et al.*, 2009).

Mutace v genu myostatinu vyvolává všeobecnou hypertrofii svalů, podporuje glykolytický metabolismus svalových vláken a vede ke snížení množství kolagenu a obsahu intramuskulárního tuku, které napomáhají křehkosti a šŕavnatosti. Zároveň však nízký obsah tuku také zhoršuje chuťové vlastnosti. Genetická dědivost je poměrně vysoká, co se týče intramuskulárního tuku (mramorování), střední pro křehkost a nízká pro chuť a šŕavnatost. (Hocquette *et al.*, 2006).

Jako představitel double-muscle fenotypu je genotyp *mh* (**m**uscular **h**ypertrophy), jež je prezentován některou změnou genu *MSTN*: mutací (inzerce či delece) a polymorfizmy. Na Obr. 14 jsou tyto přehledně zobrazeny. Genotyp *mh* je způsoben různými polymorfizmy u různých plemen (Dunner *et al.*, 2003).

Mutace delece 11 bp nt821(del11) byla popsána v r. 1997 (Dunner *et al.*, 1997). Delece ve 3. exonu zkrátí doménu proteinu, tím dojde k vyřazení z činnosti regulátoru myogeneze a dochází k hypertrofii. Projevuje se u plemen belgický modrý, akvitánský plavý, parthenaise, asturianna de valles, rubia gallega (Valentini *et al.*, 2016).

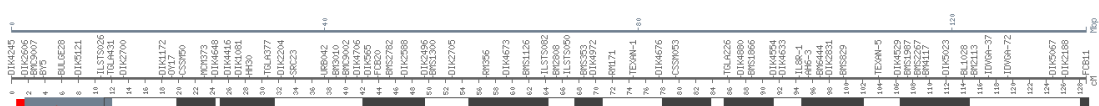


Obr. 14: Znázornění polymorfizmů *MSTN* na 3 exonech a 2 intronech (Dunner *et al.*, 2003)

SNP C313Y (g.938G>A) se jako výsledný fenotyp projeví u plemen piemontese a gaskoň (Valentini *et al.*, 2016).

SNP Q204X (g.610C>T) se projeví hypertrofií u plemen charolais a limousin. Byla provedena studie SNP Q204X u 1114 jedinců plemene charolais, 1254 jedinců limousine a jeho vlivu na růst a kvalitu masa (Allais *et al.*, 2010). Průkazně, avšak v malém měřítku (1..2%) potvrdila křehčejší, šťavnatější maso se slabší chutí, větší porodníhmotnost, denní přírůstky i porážkovou hmotnost, dále podstatně nižší tučnost pro genotyp *0/mh* než genotyp *0/0*. Genotyp *mh/mh* nebyl prezentován, neboť se jednalo o komerční chov. Stejný výsledek potvrzuje i studie zjišťující vliv *mh* alely na složení mastných kyselin na 30 příslušnicích plemene charolais: průkazně byl zjištěn pouze nižší celkový obsah tuku u genotypu *0/mh* nad *0/0* (Sevane *et al.*, 2013).

Využitelnost QTL umístěných na chromozomu 2 v okolí *myostatinu* pro účely MAS diskutuje studie (Wiener and Gutiérrez-Gil, 2009). Bylo nasbíráno 595 vzorků DNA od dvanácti různých dojených i masných plemen chovaných v Evropě. Sledované SNP byly vždy ve vysokém LD, a tedy i informační hodnota získaných dat byla pro selekci u zkoumaných zvířat nízká.



3.4.9 IGF2

Název: Insulin-like growth factor 2

Lokalizace: Chromosome 29, AC_000186.1, pozice 50037872..50065231
(Obr. 16)

Délka: 27360 bp, 10 exonů

GeneID: 281240 (BTA:281240)

Kóduje protein: Růstový faktor IGF2

Ovlivňuje: Růst a výtěžnost masa, konverze krmiva

Funkce: Inzulinu podobný růstový faktor 2 (IGF2; insulin-like growth factor 2) patří do rodiny strukturně příbuzných peptidů, která zahrnuje také IGF1, inzulin a relaxin. IGF2 je silný celulární růstový a diferenciační faktor a podílí se na růstu a vývoji u savců. IGF2 je syntetizován hlavně v zárodečné a neonatální fázi života. Proto se považuje za faktor růstu a diferenciacce plodu. Nicméně byla pozorována i role IGF2 po porodu, kde hraje klíčovou roli v růstu a diferenciaci mnoha tkání. IGFx, jejich receptory IGFxR a vazebné proteiny IGFxBP hrají klíčovou roli v růstu svalů a diferenciacce (Oksbjerg *et al.*, 2004 in Zwierzchowski *et al.*, 2010). Svalové buňky produkují IGFx a IGFxBP: IGF1 a IGF2 stimulují proliferaci a diferenciaci myoblastů a satelitních buněk, z čehož plyne jejich autokrinní / parakrinní mechanismus působení ve vývoji svalů. Vzhledem k funkcím, které *IGF2* hraje v růstu a vývoji svalů je gen *IGF2* považován za kandidátní pro marker produkce masa hospodářských zvířat (Zwierzchowski *et al.*, 2010).

Inzulinu podobný růstový faktor 2 (IGF2) je tedy členem rodiny strukturně příbuzných polypeptidů rodiny IGFx, který obsahuje dvě ligandy (IGF1 a IGF2), tři buněčné membránové receptory a řadu dalších souvisejících vazebných proteinů a regulátory. Většina cirkulujícího IGF2 je produkován v játrech, kde je jeho exprese stimulována růstovým hormonem (Abo-Al-Ela *et al.*, 2014).

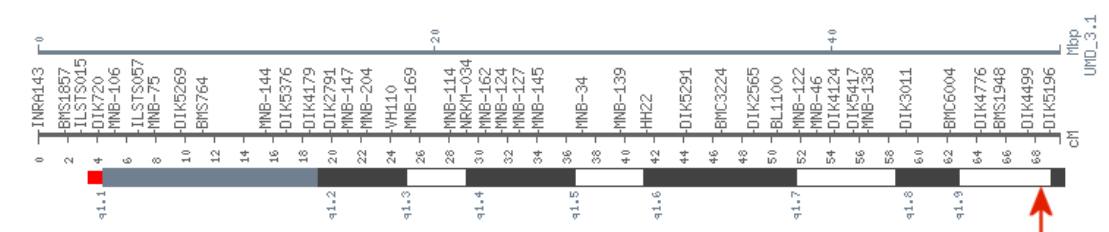
SNP g.279A>G byl asociován s kvalitativními parametry masa (Han *et al.*, 2008). U populace 186 jedinců dvouletých býků čínského plemene qinchuan byla prokázána asociace s marblingem, křehkostí ($p < 0,05$) a výrazná asociace s poráž-

kovou a jatečnou hmotností ($p < 0,01$).

SNP ss647298811 – G17A na intronu 8 byl objeven při asociační studii (Huang *et al.*, 2014). Na stádu 723 příslušníků plemene qinchuan byl zjištěn signifikantní vliv na hmotnost těla (růst) a měřené rozměry (délka, výška v kohoutku), kdy genotyp *AA* byl lepší než *GG*. Frekvence genotypů byla *GG-AG-AA* = 28-35-37 %. Předchozí studie byla provedena na 1428 jedincích čínských plemen iaxian, qinchuan a nanyang (Huang *et al.*, 2013). Byla porovnána hmotnost při narození a v 6, 12, 18 a 24 měsících stáří bylo opět poukázáno, že zvířata s genotypem *AA* vykazují vyšší hmotnost než genotypy *AG*, *GG* už od narození.

SNP ss647298820 - A1393G na intronu 8 byl nalezen spolu s předchozím polymorfizmem G17A (Huang *et al.*, 2014) a vykazuje velmi podobný vliv na měřené parametry: zjištěn byl signifikantní vliv na hmotnost těla (růst) a měřené rozměry (délka, výška v kohoutku), kdy genotyp *GG* byl parametrově lepší než *AA*. Frekvence genotypů *AA-AG-GG* byla 32-40-28 %.

SNP G18587C byl objeven při studiu vlivu *IGF2* na konverzní účinnost na 118 jedincích simentálského skotu (Xin-hua *et al.*, 2013). Signifikantní vliv má polymorfismus na denní přírůstek, který je o 20 % vyšší u homozygotů *AA* či *BB* oproti heterozygotu *AB*, avšak neprokázal se vliv na celkovou konverzní účinnost. Frekvence genotypů byla *AA-AB-BB* = 33-39-28 %.



Obr. 16: Lokalizace genu *IGF2* na chromozomu 29 (<http://www.animalgenome.org>)

3.4.10 TG

Název: Thyroglobulin

Lokalizace: Chromosome 14, AC_000171.1, pozice 9253697..9263933
(Obr. 17)

Délka: 10237 bp, 48 exonů

GeneID: 280706 (BTA:280706)

Kóduje protein: Hormon, regulace využití živin, metabolismus tuku

Ovlivňuje: Růst a organoleptické vlastnosti masa – tučnost

Funkce: Thyroglobulin je glykoprotein, který slouží jako prekurzor a nosič dalších produktů štítné žlázy (T4 a T3). Společně ovlivňují spoustu funkcí v organismu, od růstu přes reprodukci až k duševní činnosti.

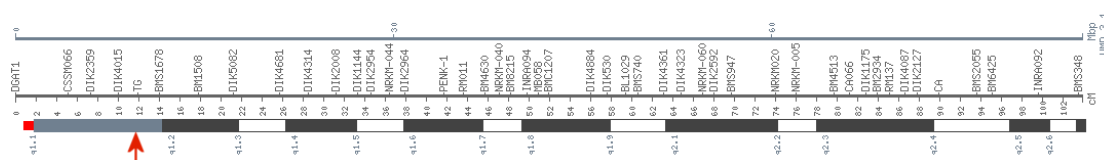
Hormony štítné žlázy tyroxin a trijodtyronin hrají klíčovou roli v regulaci metabolismu a mají vliv na růst adipocytů, diferenciaci a homeostázu tukové tkáně (Casas et al, 2007). Thyroglobulin (TG) je prekurzorem hormonů štítné žlázy a je syntetizován z folikulárních buněk štítné žlázy (Ailhaud *et al.*, 1992). Gen *TG* byl mapován na lokusu kvantitativních znaků (QTL), a je považován za funkční a poziční kandidát pro tloušťku tuku (Thaller et al, 2003). Bylo taktéž zjištěno, že přímo řídí metabolismus tuku (Barendse, 1999).

SNP g.-422C>T na mikrosatelitu CSSM66 na (5' konci) byl jako první popsán a taktéž asociován s marbling skóre (Barendse, 1999). Bylo genotypizováno 1750 jedinců v Americe chovaných plemen: angus, shorthorn a jejich kříženců. Rozlišované genotypy jsou v návaznosti na techniku analýzy (SSCP) homozygotní 22, 33 a heterozygotní 23. Studie prokázala podstatnou asociaci ($p < 0,05$) genotypu 33 s marblingem oproti genotypu 22. Další studie tohoto polymorfizmu proběhla na 55 jedincích skotu (28 holštýnského skotu, 27 charolais) - (Thaller et al, 2003); byl zjištěn vliv pouze u svalu *musculus longissimus dorsi*, zatímco u *m. semitendinosus* se asociace nepotvrdila. V další studii tohoto markeru u japonského skotu wagyu (348 volků) pak nebyla zpozorována žádná asociace (Mizoshita *et al.*, 2004). Rovněž studie polymorfizmu u brazilských stád neprokázala žádnou asociaci s hledanými užitkovými para-

metry (porážková hmotnost, zmasilost, hřbetní tuk, marbling, křehkost). Stádo bylo složeno z kříženců plemen nellore, valdostana, caracu a angus a čítalo 201 jedinců (Thiago Dutra de *et al.*, 2012). Taktéž v Evropě provedený výzkum na třech stádech kříženců vykazuje podobné výsledky, navíc nebyla prokázána asociace tohoto markeru s marblingem u subtropických plemen *Bos indicus* a jejich kříženců, prokázána byla pouze tendence ($p < 0,10$) k marblingu (Casas *et al.*, 2007).

SNP g.354T>C, g.392G>A, g.430A>G a g.433T>G jsou polymorfizmy v LD ($LD=1$). Popsány byly při studiu *TG* na stádu 271 zvířat náhodně vybraných z komerčních chovů (simentál, charolais, hereford, limousin, qinchuan, angus, luxi, jinnan). Hou *et al.* (2011) zjistil signifikantní vliv genotypu CC polymorfizmu g.354T>C na marbling, kdy genotyp *CC* vykázal nejvyšší, genotyp *TC* vykázal nejnižší a *TT* střední marbling skóre. Frekvence v populaci *TT-TC-CC*=41-41-18 % (u ostatních SNP stejná).

SNP g.1356G>A byl asociován s živou hmotností u stáda 237 kastrátů se zastoupením plemen jako u předchozího SNP (Zhang *et al.* 2015). Genotyp *GG* průkazně vykazoval vyšší hmotnost než genotyp *AA*: 574 ± 9 oproti 440 ± 55 kg. Frekvence *GG-GA-AA* = 91-8-1 %.



Obr. 17: Lokalizace genu *TG* na chromozomu 14 (<http://www.animalgenome.org>)

4. Závěr

V předešlém textu byly rešerší shrnuty aktuální poznatky zahrnující 10 genů s polymorfizmy majícími podstatný vliv na masnou užitkovost s důrazem na kvalitu masa. Byly zahrnuty geny *CAST*, *PLAG1*, *ANK1*, *FABP4*, *FASN*, *SCD*, *LEP*, *MSTN*, *IGF2* a *TG*.

Použitelnost zde popsaných genů pro genomovou selekci je rozdílná. Gen *CAST* lze ve spojení s dalšími markery calpain systému použít k selekci na křehkost a šřavnatost masa. Vliv SNP genu *PLAG1* samotného je malý. Gen *ANK1* sám o sobě má také malý rozsah vlivu, *FABP4* je funkční marker se vztahem k tučnosti masa, avšak jeho vliv je svázán s ostatními izoformami, umístěnými na jiných chromozomech. *FASN* je také funkčním markerem, jak složení mastných kyselin v tuku IMF, tak i struktury masa. *SCD*, stejně jako *LEP*, nejsou vhodnými kandidáty pro selekci pro malou průkaznost zatím zkoumaných SNP na kvalitu masa. *MSTN* gen má průkazný vliv na kvalitu masa: zvířata s mutantním genem *MSTN* mají maso s nízkým obsahem tuku. *IGF2* i *TG* jsou sice nadějně markery, avšak málo prozkoumané.

Zahrnutí SNP kandidátních lokusů do genomové selekce bude vyžadovat další práci. Uplatnění šlechtitelských postupů na základě kvantitativní genetiky je komplikováno zejména nízkým koeficientem heritability a skutečností neaditivního genetického založení znaků, jakož i neznámým genetickým pozadím, a dále projevem některých vlastností pouze u jednoho pohlaví či fixovaných na určitý věk zvířete. Analýzy jsou dále komplikovány variabilitou exprese genů u jednotlivých plemen a jejich kříženců. Proto bude potřeba provést ještě mnoho komplexních výzkumů napříč plemeny, pohlavím, stáří, jatečné části těla, způsobem výživy a prostředím chovu, všemi polymorfizmy všech genů a spolupůsobení polygenů.

5. Seznam použitých zkratek

| | |
|--------------|---|
| AK | – aminokyselina |
| <i>ANK1</i> | – ankyrin 1 |
| bp | – base pair; báзовý pár |
| <i>BTA</i> | – (<i>Bos taurus</i> autosome, bovinní autozom) |
| <i>CAPN</i> | – calcium activated neutral protease; kalpain |
| <i>CAST</i> | – calpastatin; kalpastatin |
| cDNA | – complementary DNA; komplementární DNA |
| DFD | – dark, firm and dry („high pH”); tmavé, tuhé a suché maso |
| DNA | – deoxyribonucleic acid; deoxyribonukleová kyselina |
| ETL | – economic trait loci; lokus ekonomických vlastností |
| FA | – fatty acid; mastná kyselina |
| <i>FABP4</i> | – fatty acid binding protein; bílkovinu vázající protein |
| <i>FASN</i> | – fatty acid synthase; syntáza mastných kyselin |
| GeneID | – databáze genů NCBI RefSeq |
| <i>IGF2</i> | – insulin-like growth factor 2; inzulinu podobný růstový faktor 2 |
| JUT | – jatečně upravené tělo |
| LD | – linkage disequilibrium; vazebná nerovnováha |
| <i>LEP</i> | – leptin |
| LL | – <i>musculus longissimus lumborum</i> ; sval |
| LT | – <i>musculus longissimus thoracis</i> ; sval |
| Marbling | – mramorování, maso prorostlé tukem |
| MAS | – marker-assisted selection; markery asistovaná selekce |
| <i>MSTN</i> | – myostatin |
| MUFA | – monounsaturated fatty acid; mononenasyčené mastné kyseliny |
| NGS | – next generation sequencing; sekvenování další generace |
| p | – p-value; α -hladina významnosti |
| PCR | – polymerase chain reaction; polymerázová řetězová reakce |
| <i>PLAG1</i> | – pleomorphic adenoma gene; pleomorfní adenom |
| PSE | – pale, soft and exudative („low pH ⁶ ”); bledé, měkké a vodnaté maso |
| PUFA | – polyunsaturated fatty acid; polynenasycené mastné kyseliny |
| QTL | – quantitative trait loci; lokus kvantitativních znaků |
| RFLP | – restriction fragment length polymorphism; polymorfismus délky restrikčních fragmentů |
| RNA | – ribonucleic acid; ribonukleová kyselina |
| <i>SCD</i> | – stearoyl-CoA desaturase; stearoyl-CoA desaturáza |
| SFA | – saturated fatty acid; nasycené mastné kyseliny |
| SM | – <i>musculus semimembranosus</i> ; sval |
| SNP | – single nucleotide polymorphism; jednonukleotidový polymorfismus |
| ssDNA | – single-stranded DNA; jednovláknová DNA |
| SSCP | – single-strand conformational polymorphism; konfirmační polymorfismus jednořetězcové DNA |
| <i>TG</i> | – thyroglobulin |
| u | – unit; jednotka |
| VNTR | – variable number tandem repeats; variabilní počet tendemových repetitiv |
| WBSF | – Warner-Bratzler shear force; W.-B. střížná síla |

6. Literatura

- [1] Abe T., Saburi J., Hasebe H., Nakagawa T., Misumi S., Nade T., Nakajima H., Shoji N., Kobayashi M., Kobayashi E. (2009): Novel Mutations of the FASN Gene and Their Effect on Fatty Acid Composition in Japanese Black Beef. *Biochemical Genetics*. 47:397–411.
- [2] Abo-Al-Ela H., Abu El-Magd M., El-Nahas A., Mansour A. (2014): Association of a novel SNP in exon 10 of the IGF2 gene with growth traits in Egyptian water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Tropical Animal Health and Production*. 46, 6:947-952.
- [3] Ailhaud G., Grimaldi P., Negrel R. (1992): Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Annual Review of Nutrition (USA)*. 207 stran.
- [4] Allais S., Levéziel H., Payet-Duprat N., Hocquette J. Lepetit J., Rousset S., Denoyelle C., Bernard-Capel C., Journaux L., Bonnot A., Renand G. (2010): The two mutations, Q204X and nt821, of the myostatin gene affect carcass and meat quality in young heterozygous bulls of French beef breeds. *Journal of Animal Science*. 88, 2:446-454.
- [5] Anton I., Kovács K., Holló G., Farkas V., Lehel L., Hajda Z. Zsolnai A. (2011): Effect of leptin, DGAT1 and TG gene polymorphisms on the intramuscular fat of Angus cattle in Hungary. *Livestock Science*. 135:300-303
- [6] Aslan O., Sweeney T., Mullen A., Hamill, R. (2010): Regulatory polymorphisms in the bovine Ankyrin 1 gene promoter are associated with tenderness and intramuscular fat content. *BMC Genetics*. 11:111-124.
- [7] Avilés C., Peña F., Polvillo O., Barahona M., Campo M, Sañudo C., Juárez M., Horcada A., Alcalde M., Molina A. (2015): Association between functional candidate genes and organoleptic meat traits in intensively-fed beef. *Meat Science*. 107:33-38.
- [8] Avilés C., Peña F., Polvillo O., Barahona M., Campo M., Sañudo C., Juárez M., Horcada A., Alcalde M., Molina A. (2015): Association between functional candidate genes and organoleptic meat traits in intensively-fed beef. *Meat Science*. 107:33-38.
- [9] Avilés C., Peña F., Molina A., Martínez A., Polvillo O., Juárez M (2013): Associations between DGAT1, FABP4, LEP, RORC, and SCD1 gene polymorphisms and fat deposition in Spanish commercial beef. *Journal of Animal Science*. 91, 10:4571-4577.

- [10] Bárbara Oliveira B., Rogério Abdallah C., Fernando B., Fabieli Loise Braga F., Willian Bruno Fernandes de A., Lucia Galvão de A., Henrique Nunes de O., Luis Artur Loyola C. (2014): Polymorphisms in candidate genes and their association with carcass traits and meat quality in Nelore cattle / Polimorfismos em genes-candidatos e suas associações com características de carcaça e qualidade da carne em bovinos Nelore. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 49, 5:364-371.
- [11] Barendse W., Harrison B., Bunch R., Thomas M. (2008): Variation at the Calpain 3 gene is associated with meat tenderness in zebu and composite breeds of cattle. *BMC Genetics*. 9:1-8.
- [12] Barendse, W.J. (1999): Assessing lipid metabolism. Patent. International publication Number: WO 99/23248. World International Property Organization.
- [13] Bartoň L., Kott T., Bureš D., Řehák D., Zahrádková R., Kottová B. (2010): The polymorphisms of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) and sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1) genes and their association with the fatty acid profile of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls. *Meat Science*. 85:15-20.
- [14] Bartoň L., Bureš D., Kott T., Řehák D. (2016): Associations of polymorphisms in bovine DGAT1, FABP4, FASN, and PPARGC1A genes with intramuscular fat content and the fatty acid composition of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls. *Meat Science*. 114:18-23.
- [15] Casas E., Shackelford S.D., Keele J.W., Koohmaraie M., Smith T.P., Stone R.T. (2003): Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. *Journal of Animal Sciences*. 81:2976-2983.
- [16] Casas E., White S., Shackelford S., Wheeler T., Koohmaraie M., Bennett G., Smith T. (2007): Assessing the association of single nucleotide polymorphisms at the thyroglobulin gene with carcass traits in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 85:2807–2814.
- [17] Castro S., Ríos M., Ortiz Y., Manrique C., Jiménez A., Ariza F. (2016): Association of single nucleotide polymorphisms in CAPN1, CAST and MB genes with meat color of Brahman and crossbreed cattle. *Meat Science*. 117:44-49.
- [18] Cho S., Park T., Yoon D., Cheong H., Namgoong S., Park B., Lee H., Han C., Kim E., Cheong I., Kim H., Shin H. (2008): Identification of genetic polymorphisms in FABP3 and FABP4 and putative association with back fat thickness in Korean native cattle. *Biochemistry and Molecular Biology Reports*. 41(1):29-34.
- [19] Chung E., Shin S., Shin K., Chung K. (2008): SNP discovery in the leptin promoter gene and association with meat quality and carcass traits in Korean cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 21, 12:1689-1695.

- [20] Cohen P., Miyazaki M., Socci N., Hagge-Greenberg A., Liedtke W., Soukas A., Sharma R., Hudgins L., Ntambi J., Friedman J. (2002): Role for Stearoyl-CoA Desaturase-1 in Leptin-Mediated Weight Loss. *Science*. 5579:240.
- [21] de Camargo G., Porto-Neto L., Kelly M., Bunch R., McWilliam S., Tonhati H., Lehnert S., Fortes M., Moore S. (2015): Non-synonymous mutations mapped to chromosome X associated with andrological and growth traits in beef cattle. *BMC Genomics*. 16,1:1-10.
- [22] Dujková R., Ranganathan Y., Dufek A., Macák J., Bezdiček J. (2015): Polymorphic effects of FABP4 and SCD genes on intramuscular fatty acid profiles in longissimus muscle from two cattle breeds. *Acta Veterinaria Brno*. 84, 4:327-336.
- [23] Dunner S., Canon J., Charlier C., Farnir F., Brouwers B., Georges M. (1997): Towards interbreed IBD fine mapping of the mh locus: Double-muscling in the Asturiana de los Valles breed involves the same locus as in the Belgian Blue cattle breed. *Mammalian Genome*. 8, 6:430-435.
- [24] Dunner S., Miranda M., Amigues Y., Canon J., Georges M., Hanset R., Williams J., Menissier F. (2003): Genetics, Selection, Evolution / Haplotype diversity of the myostatin gene among beef cattle breeds. *E D P Sciences*. 35:103-118.
- [25] Ekerljung M., Li X., Lundén A., Lundström K., Marklund S., Näsholm A. (2012): Associations between candidate SNPs in the calpain 1, calpastatin and leptin genes and meat tenderness among Swedish beef populations. *Acta Agriculturae Scandinavica*. 62, 3:114-119.
- [26] Fortes M., Kemper K., Sasazaki S., Reverter A., Pryce J., Barendse W., Bunch R., McCulloch R., Harrison B., Bolormaa S., Zhang Y., Hawken R., Goddard M., Lehnert S. (2013): Evidence for pleiotropism and recent selection in the PLAG1 region in Australian Beef cattle. *Animal Genetics*. 44, 6:636-647.
- [27] Gandolfi G., Pomponio L., Ertbjerg P., Karlsson A., Nanni Costa L., Lametsch R., Russo V., Davoli R. (2011): Investigation on CAST, CAPN1 and CAPN3 porcine gene polymorphisms and expression in relation to post-mortem calpain activity in muscle and meat quality. *Meat Science*. 88(4):694-700.
- [28] Gazdová V. (2007): Identifikace SNPs asociovaných s produkcí masa u skotu. [Disertační práce]. Brno. 83 stran. Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat.
- [29] Grisolia A., D'Angelo G., Porto Neto L., Siqueira F., Garcia J. (2009): Myostatin (GDF8) single nucleotide polymorphisms in Nellore cattle. *Genetics and Molecular Research*. 8, 3:822-830.

- [30] Han R., Zan L., Yang D., Hao R. (2008): SNPs detection of IGF2 gene and its relationship with carcass and meat quality traits in Qinchuan cattle. *Zhongguo Yi Chuan Xue Hui Bian Ji.* 30, 12:1579-1584.
- [31] Hayakawa K., Sakamoto T., Ishii A., Yamaji K., Uemoto Y., Sasago N., Kobayashi E., Kobayashi N., Matsuhashi T., Maruyama S., Matsumoto H., Oyama K., Mannen H., Sasazaki S. (2015): The g.841G>C SNP of FASN gene is associated with fatty acid composition in beef cattle. *Animal Science Journal.* 86, 8:737-746.
- [32] Hayakawa, K, Sakamoto, T, Ishii, A, Yamaji, K, Uemoto, Y, Sasago, N, Kobayashi, E, Kobayashi, N, Matsuhashi, T, Maruyama, S, Matsumoto, H, Oyama, K, Mannen, H, & Sasazaki, S. (2015): The g.841G> C SNP of FASN gene is associated with fatty acid composition in beef cattle. *Animal Science Journal.* 86, 8:737-746.
- [33] Hill W. E. (2007): Restriction fragment length polymorphism. <http://vm.cfsan.fda.gov/~frf/rflp.html>.
- [34] Hoashi S., Hinenoya T., Tanaka A., Ohsaki H., Sasazaki S., Mukai F., Mannen H., Taniguchi M., Oyama K.. (2008): Association between fatty acid compositions and genotypes of FABP4 and LXR-alpha in Japanese Black cattle. *BMC Genetics.* 9, 84:1-7.
- [35] Hocquette J.F., Renand G., Levéziel H., Picard B., Cassar-Malek I. (2006): The potential benefits of genetics and genomics to improve beef quality—a review. *Animal Science Papers and Reports.* 24(3):173-189.
- [36] Horodyska J., Sweeney T., Ryan M., Hamill R. (2015): Novel SNPs in the Ankyrin 1 gene and their association with beef quality traits. *Meat Science.* 108:88-96.
- [37] Hou G., Yuan Z., Zhou H., Zhang L., Li J., Gao X., Wang D., Gao H., Xu S. (2011): Association of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. *Molecular Biology Reports.* 38, 7:4705.
- [38] <http://www.illumina.com/>
- [39] Huang Y., Wang J., Zhan Z., Cao X., Sun Y., Lan X., Lei C., Zhang C., Chen H. (2013): Assessment of association between variants and haplotypes of the IGF2 gene in beef cattle. *Gene.* 528:139-145.
- [40] Huang Y., Zhan Z., Li X., Wu S., Sun Y., Xue J., Lan X., Lei C., Zhang C., Jia Y., Chen H. (2014): SNP and haplotype analysis reveal IGF2 variants associated with growth traits in Chinese Qinchuan cattle. *Molecular Biology Reports.* 41, 2:591-598.
- [41] Juma A., Grommen S., De Groef B., Damdimopoulou P., Van de Ven W. (2016): Emerging role of PLAG1 as a regulator of growth and reproduction. *Journal of Endocrinology.* 228, 2:R45.

- [42] Kaikaus R., Bass N., Ockner R. (1990): Functions of fatty acid binding proteins. *Experientia*. 46, 6:617-630.
- [43] Kaplanová K. (2012): Molekulárně-genetické markery využitelné v selekci masného skotu s ohledem na kvalitu hovězího masa. [Disertační práce]. Brno. 169 stran. Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat.
- [44] Kaplanova K., Dufek A., Drackova E., Simeonovova J., Subrt J., Vrtkova I., Dvorak J. (2013): The association of CAPN1, CAST, SCD, and FASN polymorphisms with beef quality traits in commercial crossbred cattle in the Czech Republic. *Czech Journal of Animal Science*. 58, 11:489-496.
- [45] Karim L., Takeda H., Lin L., Druet T., Arias J., Baurain D., Cambisano N., Davis S., Farnir F., Grisart B., Harris B., Keehan M., Littlejohn M., Spelman R., Georges M., Coppeters W. (2011): Nature Genetics / Variants modulating the expression of a chromosome domain encompassing PLAG1 influence bovine stature. *Nature Genetics*. 43, 5:405-413.
- [46] Koohmaraie M. (1996): Biochemical Factors Regulating the Toughening tenderization processes of meat. *Meat Science*. 43:193-201.
- [47] KOUBOVÁ K. (2012): Genetický polymorfismus vybraných kódujících lokusů ve vztahu k technologickým vlastnostem masa [Diplomová práce]. České Budějovice. 57 stran. JČU České Budějovice, Katedra šlechtění, genetiky a výživy.
- [48] Lee S., Choi B., Lim D., Gondro C., Cho Y., Dang C, Sharma A., Jang G., Lee K., Yoon D., Lee H., Yeon S., Yang B., Kang H., Hong, S. (2013): Genome-Wide Association Study Identifies Major Loci for Carcass Weight on BTA14 in Hanwoo (Korean Cattle). *Meat Science*. 94:153–158.
- [49] Li X., Ekerljung M., Lundström K., Lundén A. (2013): Association of polymorphisms at DGAT1, leptin, SCD1, CAPN1 and CAST genes with color, marbling and water holding capacity in meat from beef cattle populations in Sweden. *Meat Science*. 94(2):153-158.
- [50] Lim D., Kim N.K., Park H.S., Lee S.H., Cho Y.M., Oh S.J., Kim T.H., Kim H. (2011): Identification of Candidate Genes related to Bovine Marbling using Protein-Protein Interaction Networks. *International Journal of Biological Sciences*. 7 7:992-1002.
- [51] Marques E., Nkrumah J., Sherman E., Moore S. (2009): Polymorphisms in positional candidate genes on BTA14 and BTA26 affect carcass quality in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 87, 8:2475-2484.
- [52] Matsumoto H., Nogi T., Tabuchi I., Oyama K., Mannen H., Sasazaki S. (2014): The SNPs in the promoter regions of the bovine FADS2 and FABP4 genes are associated with beef quality traits. *Livestock Science*. 187:53-60.

- [53] Mberema C., Lietz G., Kyriazakis I., Sparagano O. (2016): The effects of gender and muscle type on the mRNA levels of the calpain proteolytic system and beef tenderness during post-mortem aging. *Livestock Science*. 185:123-130.
- [54] Michal J., Zhang Z., Gaskins C., Jiang Z. (2006): The bovine fatty acid binding protein 4 gene is significantly associated with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu x Limousin F2 crosses. *Animal Genetics*. 37, 4:400-402.
- [55] Mizoshita K., Watanabe T., Hayashi H., Kubota C., Yamakuchi H., Todoroki J., Sugimoto Y. (2004): Quantitative trait loci analysis for growth and carcass traits in a half-sib family of purebred Japanese Black (Wagyu) cattle. *Journal of Animal Science*. 82:3415–3420.
- [56] Mullis K., Faloona F. (1987): Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods In Enzymology*. 155:335-350.
- [57] Narukami T., Sasazaki S., Oyama K., Nogi T., Taniguchi M., Mannen H. (2011): Effect of DNA polymorphisms related to fatty acid composition in adipose tissue of Holstein cattle. *Animal Science Journal*. 82, 406–411.
- [58] Nishimura S., Watanabe T., Sugimoto Y., Takasuga A., Mizoshita K., Tatsuda K., Fujita T., Watanabe N. (2012): Genome-wide association study identified three major QTL for carcass weight including the PLAG1-CHCHD7 QTN for stature in Japanese Black cattle. *BMC Genetics*. 13, 40:1-11
- [59] Nkrumah J., Li C., Yu J., Hansen C., Keisler D., Moore S. (2005): Polymorphisms in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of carcass merit. *Journal of Animal Science*. 83:20-28.
- [60] Oh D., La B., Yeo J., Lee Y., Chung E., Kim Y., Lee C. (2012): Fatty acid composition of beef is associated with exonic nucleotide variants of the gene encoding FASN. *Molecular Biology Reports*. 39, 4:4083-4090.
- [61] Orrù L., Cifuni G., Piasentier E., Corazzin M., Bovolenta S., Moioli B. (2011): Association analyses of single nucleotide polymorphisms in the LEP and SCD1 genes on the fatty acid profile of muscle fat in Simmental bulls. *Meat Science*. 87:344-348.
- [62] Mazzucco J.P., Goszczynski D., Ripoli M., Melucci L., Pardo A., Colatto E., Rogberg-Muñoz A., Mezzadra C., Depetris G., Giovambattista G., Villarreal E. (2016): Growth, carcass and meat quality traits in beef from Angus, Hereford and cross-breed grazing steers, and their association with SNPs in genes related to fat deposition metabolism. *Meat Science*. 114:121-129.

- [63] Passos D., Hepp D., Moraes J., Weimer T. (2007): Effect of polymorphisms linked to LEP gene on its expression on adipose tissues in beef cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics Zeitschrift Für Tierzüchtung Und Züchtungsbiologie*. 124:157–162.
- [64] Pérez-Juan M., Realini C., Barahona M., Sarriés M., Campo M., Beriain M., Vitale M., Gil M., Albertí P. (2014): Effects of Enrichment with Polyunsaturated Fatty Acids (Omega-3 and Conjugated Linoleic Acid) on Consumer Liking of Beef Aged for 7 or 21 d Evaluated at Different Locations. *Journal of Food Science*. 79,11:S2377-S2382.
- [65] Porter N.C., Resneck W.G., O'Neill A., Van Rossum D.B., Stone M.R., Bloch R.J. (2005): Association of small ankyrin 1 with the sarcoplasmic reticulum. *Molecular membrane biology*. 22:421-432.
- [66] Reardon W., Mullen A., Sweeney T., Hamill R. (2010): Association of polymorphisms in candidate genes with colour, water-holding capacity, and composition traits in bovine M. longissimus and M. semimembranosus. *Meat Science*. 2:270-275.
- [67] Roy R., Taourit S., Zaragoza P., Eggen A., Rodellara C. (2005): Genomic structure and alternative transcript of bovine fatty acid synthase gene (FASN): comparative analysis of the FASN gene between monogastric and ruminant species. *Cytogenetic Genome Research*. 111:65–73.
- [68] Roy R., Ordovas L., Zaragoza P., Romero A., Moreno C., Altarriba J., Rodellar C. (2006): Association of polymorphisms in the bovine FASN gene with milk-fat content. *Animal Genetics*. 37,3:215-218.
- [69] Lozano M.R., Alfaro-Zavala S., Sifuentes-Rincón A., Parra-Bracamonte G., Braña Varela D., Medina R., Pérez Linares C., Ríos Rincón F., Sánchez Escalante A., Torrescano Urrutia G., Figueroa Saavedra F. (2016): Meat Tenderness Genetic and Genomic Variation Sources in Commercial Beef Cattle. *Journal of Food Quality*. 39,2:150-156.
- [70] Saiki R., Scharf S., Faloona F., Mullis K., Horn G., Erlich H., Arnheim, N. (1985): Enzymatic Amplification of β -Globin Genomic Sequences and Restriction Site Analysis for Diagnosis of Sickle Cell Anemia. *Science*. 4732: 1350-1354.
- [71] Saiki R., Gelfand D., Stoffel S, Scharf S., Higuchi R., Horn G., Mullis K., Erlich H. (1988): Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase. *Science*. 4839:487-491.
- [72] Sambrook J., Fritsch E., Maniatis T. (1989): Molecular Cloning : A Laboratory Manual. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*. ISBN:978-1-936113-42-2.
- [73] Samulin J., Berget I., Lien S., Sundvold H. (2008): Differential gene expression of fatty acid binding proteins during porcine adipogenesis. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Part B,151:147-152.

- [74] Schennink A., Bovenhuis H., Léon-Kloosterziel K., van Arendonk J., Visker M. (2009): Effect of polymorphisms in the FASN, OLR1, PPARGC1A, PRL and STAT5A genes on bovine milk-fat composition. *Animal Genetics*. 40: 909-916.
- [75] Schenkel F., Miller S., Ye X., Moore S., Nkrumah J., Li C., Yu J., Mandell I., Wilton J., Williams J. (2005): Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *Journal of Animal Science*. 83:2009-2020.
- [76] Schenkel F., Miller S., Jiang Z., Mandell I., Ye X., Li H., Wilton J. (2006): Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *Journal of Animal Science*. 84:291-299.
- [77] Sevane N., Nute G., Sañudo C., Cortes O., Cañon J., Williams J., Dunner S. (2014): Muscle lipid composition in bulls from 15 European breeds. *Livestock Science*. 160:1-11.
- [78] Smith S, Witkowski A, Joshi A. (2003): Review: Structural and functional organization of the animal fatty acid synthase. *Progress In Lipid Research*. 42:289-317.
- [79] Snustad D.P., Simmons M.J. (2009): Genetika. *Masarykova univerzita v Brně*. ISBN: 978-80-210-4852-2.
- [80] Stothard P., Liao X., Arantes A.S., De Pauw M., Coros C. , Plastow G.S., Sargolzaei M., Crowley J.J., Basarab J.A., Schenkel F., Moore S., Miller S.P. (2015): A large and diverse collection of bovine genome sequences from the Canadian Cattle Genome Project. *GigaScience*. 4:49-65.
- [81] Šmarda J., Doškař J., Pantůček R., Růžicková V., Koptíková J. (2005): Metody molekulární biologie. *Masarykova univerzita v Brně*. ISBN 80-210-3841-1.
- [82] Taniguchi M., Utsugi T., Oyama K., Mannen H., Kobayashi M., Tanabe Y., Ogino A., Tsuji S. (2004): Genotype of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. *Mammalian Genome*. 15,2:142-148.
- [83] Thaller G., Kühn C., Winter A., Ewald G., Bellmann O., Wegner J., Zühlke H., Fries R. (2003): DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Animal Genetics*. 34,5:354-357.
- [84] Thiago Dutra de C., Fabiane S., Almeida de , T.R.A., Raposo de M.S., Gelson L.D.F, Dorta de S.M., Zaidan B.I.M., Oliveira S.C. (2012): Association of polymorphisms in the leptin and thyroglobulin genes with meat quality and carcass traits in beef cattle. *Revista Brasileira De Zootecnia*. 41,10:2162-2168.

- [85] Urban T (2009): Virtuální svět genetiky 3 - principy genetiky populací a kvantitativních znaků. [online]. [cit. 2015-05-01]. Dostupné z <http://user.mendelu.cz/urban/vsg3>.
- [86] Urban T. (2016): Virtuální svět genetiky 2 - principy molekulární genetiky. [online]. [cit. 2016-04-01]. Dostupné z <http://user.mendelu.cz/urban/vsg2>.
- [87] Valentini A., Bongiorni S., Chillemi G. (2016): Structural and Dynamic Characterization of the C313Y Mutation in Myostatin Dimeric Protein, Responsible for the "Double Muscle" Phenotype in Piedmontese Cattle. *Frontiers In Genetics*. 7,14:1-8.
- [88] Wiener P., Gutiérrez-Gil B. (2009): Assessment of selection mapping near the myostatin gene (GDF-8) in cattle. *Animal Genetics*. 40,5:598-608.
- [89] Williams J., Dunner S., Valentini A, Mazza R., Amarger V., Checa M., Crisà A., Razzaq N., Delourme D., Grandjean F., Marchitelli C., García D., Pérez Gomez R., Negrini R., Ajmone Marsan P., Levéziel H. (2009): Discovery, characterization and validation of single nucleotide polymorphisms within 206 bovine genes that may be considered as candidate genes for beef production and quality. *Animal Genetics*. 40:486–491.
- [90] Wulf D.M., Wise J.W. (1999): Measuring muscle color on beef carcasses using the L*a*b* color space. *Journal of Animal Science*. 77(9):2418-2427.
- [91] Xin-hua D., Cui C., Zheng-rong Y., Li-min Z., Xiao-jie C., Yan-hui W., Xue G., Lu-pei Z., Hui-jiang G., Jun-ya L., Shang-zhong X. (2013): Genetic Polymorphisms of Mc4R and IGF2 Gene Association with Feed Conversion Efficiency Traits in Beef Cattle. *Pakistan Veterinary Journal*. 33,4:418-422.
- [92] Yeon S., Lee S., Choi B., Lee H., Jang G., Lee K., Kim K., Lee J., Chung H. (2013): Genetic variation of FASN is associated with fatty acid composition of Hanwoo. *Meat Science*. 94:133-138.
- [93] Zhang S., Knight T.J., Reecy J.M., Beitz D.C. (2008): DNA polymorphisms in bovine fatty acid synthase are associated with beef fatty acid composition. *Animal Genetics*. 39: 62–70.
- [94] Zhang L., Gao H., Li J., Xu S., Gan Q., Hou G. (2015): Investigation of TG gene variants and their effects on growth, carcass composition, and meat quality traits in Chinese steers. *Genetics and Molecular Research*. 14,2:5320-5326.
- [95] Zwierzchowski L., Siadkowska E., Oprzadek J., Flisikowski K., Dymnicki E. (2010): An association of C/T polymorphism in exon 2 of the bovine insulin-like growth factor 2 gene with meat production traits in Polish Holstein-Friesian cattle. *Czech Journal of Animal Science*. 6:227-233.