

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ  
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

**BAKALÁRSKA PRÁCA**

**BRNO 2015**

**LENKA KAVICKÁ**

**Mendelova univerzita v Brně**  
**Agronomická fakulta**  
**Ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat**



Agronomická  
fakulta

Mendelova  
univerzita  
v Brně



---

**Molekulárne genetické metódy a ich uplatnenie v  
zušľacht'ovaní populácií hospodárskych zvierat s  
aplikáciou na ovce**

Bakalárska práca

*Vedúci práce:*  
doc. Ing. Tomáš Urban, Ph.D.

*Vypracovala:*  
Lenka Kavická

---

Brno 2015

**zadanie**

## Čestné vyhlásenie

Prehlasujem, že som prácu Molekulárne genetické metódy a ich uplatnenie v zušľachtovaní populácií hospodárskych zvierat s aplikáciou na ovce vypracoval / a samostatne a všetky použité pramene a informácie uvádzam v zozname použitej literatúry. Súhlasím, aby moja práca bola zverejnená v súlade s § 47b zákona č. 111/1998 Zb. O vysokých školách v znení neskorších predpisov a v súlade s platnou smernicou o zverejňovaní vysokoškolských záverečných prác.

Som si vedomý / a, že sa na moju prácu vzťahuje zákon č. 121/2000 Zb., Autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavretie licenčnej zmluvy a použitia tejto práce ako školského diela podľa § 60 ods. 1 autorského zákona.

Ďalej sa zaväzujem, že pred spísaním licenčnej zmluvy o využití diela inou osobou (subjektom) si vyžiadam písomné stanovisko univerzity, že predmetná licenčná zmluva nie je v rozpore s oprávnenými záujmami univerzity, a zaväzujem sa uhradiť prípadný príspevok na úhradu nákladov spojených so vznikom diela, a to až do ich skutočnej výšky.

V Brne dňa:.....

.....

podpis

## POĎAKOVANIE

Veľmi by som chcela poďakovať pánovi doc. Ing. Tomášovi Urbanovi, Ph.D. za odborné vedenie práce, ochotu pomôcť a rady pri riešení otázok s prácou spojených.

## **ABSTRAKT**

Táto práca sa venuje metódam aplikovaným v molekulárnej genetike, ktoré sa uplatňujú v zušľacht'ovaní populácie hospodárskych zvierat so zameraním na ovce. Je tu opísané šľachtenie oviec, podrobný prehľad molekulárne genetických metód. A tiež sa venuje genetickým markerom, technológii DNA chipov pri aplikácii MAS a genomickej selekcie u oviec.

**Kľúčové slová:** genomika, molekulárne genetické metódy, genetický marker, ovca

## **ABSTRACT**

This work is about methods applied in molecular genetics which are used to grading up of agricultural animal population with a focus on the sheep. It describes sheep breeding and detailed overview of molecular genetic methods. It also includes genetic markers, the DNA chips technology during the MAS application and genomic sheep selection.

**Key words:** genomics, molecular genetic methods, genetic marker, sheep

## OBSAH

1	Úvod .....	8
2	Cieľ práce.....	9
3	Literárny prehľad.....	10
3.1	Úvod do šľachtenia ovčí .....	10
3.1.1	História šľachtenia.....	10
3.1.2	Využitie molekulárnej genetiky v šľachtení oviec .....	11
3.2	Molekulárne genetické markery a metódy detekcie .....	14
3.2.1	Genetické Markery.....	14
3.2.2	Mikrosatelity .....	16
3.2.3	Jednonukleotídové polymorfismy.....	16
3.2.4	Prehľad najpoužívaných metód.....	16
3.2.4.1	PCR-RFLP .....	16
3.2.4.2	SSCP .....	16
3.2.4.3	RAPD.....	17
3.2.4.4	DGGE .....	17
3.2.4.5	AFLP.....	17
3.2.4.6	Sekvencovanie.....	18
3.2.4.7	Pyrosekvencovanie.....	18
3.2.4.8	PCR v reálnom čase .....	18
3.2.4.9	DNA array .....	18
3.3	Aplikácia genetiky v zušľachtovaní populácií .....	19
3.3.1	Charakterizácia genómu hospodárskych zvierat.....	19
3.3.2	Genom ovčí .....	20
3.3.3	Stav sekvetovania genómu oviec .....	21
3.3.3.1	Nukleotidové sekvencie génov a chromozómov .....	21
3.3.3.2	Využitie v Austrálii.....	23
3.3.4	Genetické markery a technológia DNA chipov pri aplikácii MAS a genomickej selekcie u oviec .....	23
3.3.5	Metódy odhadu genomickej plemennej hodnoty .....	26
4	Záver.....	29
5	Prehľad použitej literatury .....	30
6	Zoznam použitých skratiek.....	32

# 1 ÚVOD

Téma Molekulárne genetické metódy a ich uplatnenie v zušľachtovaní populácií hospodárskych zvierat s aplikáciou na ovce som si vybrala pre môj záujem o šľachtenie hospodárskych zvierat. Chcem sa hlavne zamerať na ovce z dôvodu môjho blízkeho vzťahu k tomuto druhu. Ovca je vynikajúci druh vhodný k testovaniu.

K molekulárnym genetickým metódam som sa počas štúdia na univerzite dostala iba okrajovo. Týchto metód je veľmi veľa a zamerala som sa na tie, ktoré sa dajú využiť v zušľachtovaní populácie hospodárskych zvierat. V práci som sa zamerala na význam genetických markerov a na ich funkciu v molekulárnych genetických metódach. Ďalej som opísala stav sekvenovania genomu oviec a jeho následne využitie v zušľachtovaní populácie oviec.



## **2 CIEĽ PRÁCE**

Cieľom práce je spracovať najnovšie poznatky z oblasti molekulárne genetického prístupu v metódach šľachtenia hospodárskych zvierat, aplikovanej na aktuálny stav v šľachtení oviec.

V prvom rade je dôležité oboznámiť sa so šľachtením hospodárskych zvierat a využitím molekulárnej genetiky v šľachtení oviec. Získať dostupné zdroje o metódach použitých v molekulárnej genetike zvierat. Spracovať informácie o charakterizácii genómu hospodárskych zvierat, špeciálne zameraných na ovce. Odhaliť stav sekvenovania genómu ovce. Zaoberať sa genetickými markermi a technológiou DNA chipov pri aplikácii MAS a genomickej selekcie u oviec. Nadobudnúť informácie o metódach odhadu genomickej plemennej hodnoty. Zoznámiť sa s trendmi a výhľadmi v blízkej budúcnosti šľachtenia.

### 3 LITERÁRNY PREHĽAD

#### 3.1 ÚVOD DO ŠLACHTENIA OVCÍ

##### 3.1.1 HISTÓRIA ŠLACHTENIA

Prvé náznaky selekcie zvierat do chovu siahajú až k začiatkom domestikácie v mladšej dobe kamennej. Zvieratá sa museli prispôbiť podmienkam chovu v zajatí a tie ktoré sa v týchto podmienkach boli schopné rozmnožovať sa výraznejšie podieľali na vzniku nových generácií. Selekcia oviec sa mnoho storočí sprostredkovávala náhodne a empiricky. Prvé chovateľské spolky začali vznikať začiatkom 18. storočia. Tieto spolky začali sledovať a registrovať pôvody zvierat, ktoré dali základ vzniku plemenných kníh a utváraniu čistokrvných plemien. (HORÁK, 2012)

Robert Bakewell (1725-1795) bol vynikajúcim šľachtiteľom, ktorý v 18. storočí položil základ moderným metódam šľachtenia hospodárskych zvierat. V mnoho smeroch predbehol svoju dobu a predpokladá sa, že bol prvým šľachtiteľom, ktorý použil hodnotenie podľa potomstva, najskôr na baranoch a potom aj na býkoch. Používal prísnu selekciu v spojení s príbuzenskou plemenitbou (inbridingom), čo sa dalo označiť za pokrokovú metódu. V jeho práci pokračovali bratia Charles a Robert Collingovi. Ich zásluhou sa začali uvádzať do praxe prvé skúšky kontroly úžitkovosti, predovšetkým u oviec a mliečného dobytku. (HORÁK, 2004)

V roku 1866 opäť Gregor Johann Mendel (1822- 1884) popísal základné princípy dedičnosti, čím boli položené základy nového vedného odboru – genetiky a pre využitie jej princípov procese šľachtenia rastlín a zvierat. (HORÁK, 2012)

V dnešnej dobe fungujú šľachtiteľské programy a vedú sa plemenné knihy. V každej krajine pôsobí organizácia, ktorá má na starosti šľachtiteľský program. Na Slovensku sa táto organizácia nazýva Zväz chovateľov oviec a kôz na Slovensku so sídlom v Banskej Bystrici. Svaz chovateľů ovcí a koz pôsobí v Českej republike. Ich úlohou je riadiť šľachtiteľský program, sledovanie, komunikácia, výmena poznatkov a výsledkov s ostatnými chovateľmi.

### 3.1.2 VYUŽITIE MOLEKULÁRNEJ GENETIKY V ŠĽACHTENÍ OVIEC

Molekulárna genetika prežíva obdobie intenzívneho rozmachu a využíva svoje uplatnenie už aj v praktickom šľachtení oviec. Princíp, ktorý je najviac využívaný je detekcia varianty génu priamo na molekule DNA a vykonávanie selekcie zvierat na základe tejto informácie. Genotypizácia na vnímavosť voči klusavke bola zavedená v Českej republike v roku 2003. Do plemenitby u väčšiny plemien mohli byť zaradení len barany, ktorí boli nositelia žiaducej alely ARR (skupiny odolnosti R1 a R2). Novšie výskumy poukázali, že táto alela nie je optimálna z hľadiska životaschopnosti zvierat. Preto bolo v roku 2011 umožnené zaraďovanie do chovu aj baranov zaradených do triedy odolnosti R3, ak sú nositeľmi "divokej" alely ARQ, ktorá sa spája s vyššou životaschopnosťou. V súčasnosti je teda program zvyšovania genetickej odolnosti oviec voči klusavke zameraný iba na elimináciu nežiaducich alely VRQ.

Možnosť genotypizácie génu vysokej plodnosti  $Fec^B$  je ďalším príkladom praktického použitia metód molekulárnej genetiky. Týmto sa významne zefektívnila detekcia jeho nositeľov. V minulosti nositelia plodného génu sa určovali na základe opakovaných sledovaní počtov jahniat vo vrhoch vlastných i vo vrhoch potomstva alebo bol na tento účel laparoskopicky určovaný počet ovulovaných vajíčok. V dnešnej dobe určenie nositeľstva tohto génu je možné na základe vzorky DNA zvierat'a. Je to možné už od jeho narodenia. V šľachtení dobytky je v poslednej dobe stále rozšírenejšia genomická selekcia založená na určovaní polymorfizmu jednotlivých nukleotidov (SNP - single nucleotide polymorphism), kedy sa určujú varianty veľkého množstva (desiatok až stoviek tisíc) nukleových báz na DNA. V podstate sa to dá porovnať so situáciou, kedy v návode na život, akým je DNA, prečítame v každom odseku jedno písmenko. Toto už stačí na to, aby sme mohli zvieratá navzájom porovnávať, upresňovať mieru ich vzájomnej podobnosti a vykonávať selekciu najmä u mladších kategórií zvierat na základe ich genotypu. Dá sa očakávať, že v budúcnosti tento postup nájde svoju realizáciu aj v oblasti šľachtenia oviec, najmä u dojných plemien.

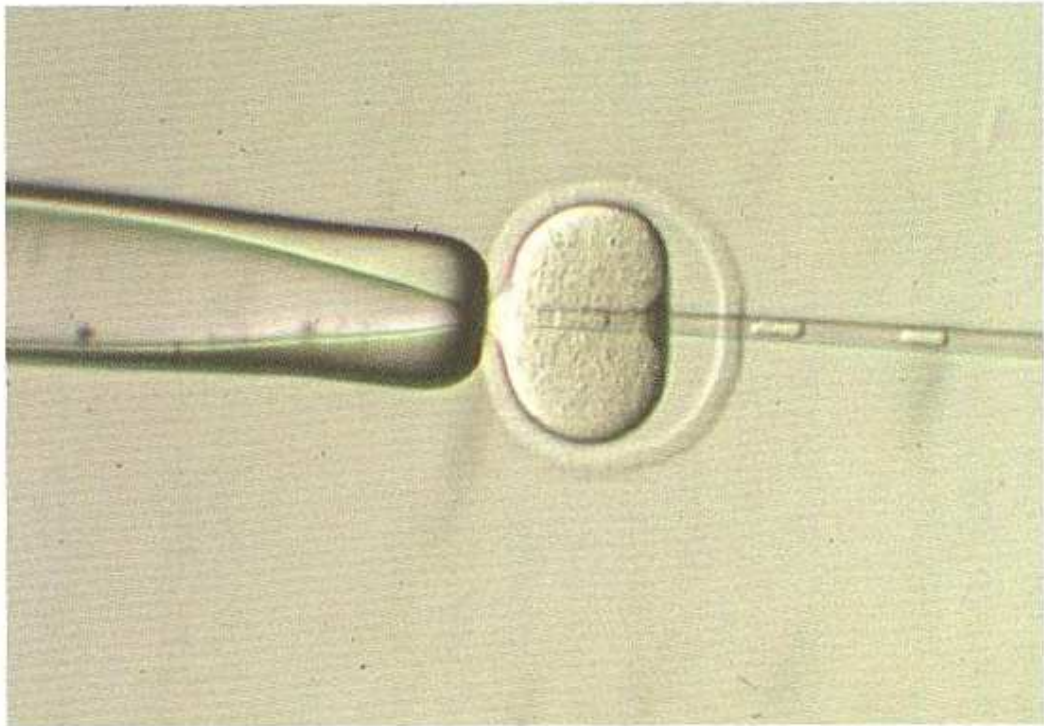
Efektívne rozšírenie výhodných génov do ďalších generácií bude v budúcnosti riešené mimo iného aj pomocou klonovania. Otázka klonovania vyvoláva širokú diskusiu už dlhšiu dobu. Do histórie už vstúpila svojím spôsobom aj ovca Dolly (Obr. č.1).



Obrázok č. 1: Ovca Dolly (Zdroj: SNUSTAD, SIMMONS, 2009)

Ovca Dolly bola prvým úspešne naklonovaným cicavcom. (HORÁK, 2012)

Vedeckí pracovníci z výskumného inštitútu v Rosline, ktorý sa vyskytuje v Škótsku neďaleko Edinburghu, ovcu Dolly vytvorili metódou fúzie vajíčka (Obr. č.2) z ovce plemena Blackface (matka vajíčka) a bunky z vemena ovce plemena Finn Dorset (genetická matka). Genetický materiál vo vajíčku ovce plemena Blackface bol zlikvidovaný ešte pred fúziou s bunkou z vemena. Toto novo vybavené vajíčko bolo postupne stimulované k deleniu. Tak sa zrodilo embryo, ktoré bolo následne implantované do maternice inej ovce plemena Blackface (náhradná matka). Embryo potom narastalo a vyvíjalo sa. Po uplynutí doby gravidity, narodila sa ovca Dolly. (SNUSTAD, SIMMONS, 2009) Narodila sa 5. 7. 1996 za prítomnosti prof. Wilmuta. (HORÁK, 2012)



Obrázok č. 2: Postup pri klonovaní (Zdroj: SNUSTAD, SIMMONS, 2009)

Tento postup, podľa ktorého bola Dolly stvorená, bol výsledkom intenzívneho výskumu bunkových aspektov rozmnožovania a trval celé storočie. Za normálnych okolností samičie vajíčko oplodnení samčia spermia. Vznikne zygota, ktorá sa následne delí za vzniku dvoch geneticky identických buniek. Tieto bunky sa mnohonásobne rozdelia, a tak vytvoria viacbunkový organizmus. V organizme potom zmení spôsob delenia určitá skupina buniek. Takto vzniknú špecializované rozmnožovacie bunky - vajíčka alebo spermie. Vajíčko jedného takého organizmu potom splynie so spermiou iného organizmu a zrodí sa nový potomok. Potomok následne rastie a rovnaký cyklus sa opakuje, generáciu za generáciou. Iba ovca Dolly ako jediná nezodpovedá tomuto štandardnému spôsobu rozmnožovania. Jej tvorcovia venovali pozornosť odlišnému cieľu. (SNUSTAD, SIMMONS, 2009)

Počas siedmich rokov sa ovce Dolly narodilo šesť zdravých jahniat. Bola utratená v roku 2003 vo veku 7 rokov z dôvodu ochorenia infekcie pľúc. (HORÁK, 2012)

## 3.2 MOLEKULÁRNE GENETICKÉ MARKERY A METODY DETEKCIE

### 3.2.1 GENETICKÉ MARKERY

Genetický marker je vysoko polymorfný znak. Tento marker vykazuje mendelistickú kodominantnú dedičnosť. Zistiť ho môžeme ľahko a jednoznačne. Oproti klasickým molekulárne genetické markery vlastní tieto výhody:

- a) dajú sa relatívne ľahko identifikovať a sú početné,
- b) sú vysoko informatívne,
- c) môžu byť typované z mikroskopického množstva tkaniva v akomkoľvek veku jedinca (vrátane embryí alebo po smrti jedinca),
- d) DNA môže byť dlhodobo uschovávaná a je možné sa tak k analýze opakovanaj po niekoľkoročnom období vracat'. (KNOLL, VYKOUKALOVÁ, 2002)

Rozvoj metód sa spája s postupným rastom nových technológií v šľachtení zvierat smerujúcich k zvýšeniu úžitkovosti pomocou selekcie podporovanej markermi (MAS - marker assisted selection). Pre nadobudnutie takých markerov je nutné poznať mapu génov a lokusov kvantitatívnych znakov (QTL), rovnako dôležité je identifikovať gény, ktoré môžu ovplyvňovať náležitý úžitkový znak (kandidátne gény) a v experimentálnych a komerčných populáciách vykonať asociačné štúdie. Problémom týchto asociačných štúdií je neidentifikovateľné genetické pozadie a väzbová nerovnováha v populáciách. Pretože úžitkové vlastnosti sú kvantitatívneho charakteru, je mnoho génov, ktoré prispievajú značne k podielu variability sledovanej vlastnosti.

Molekulárna genetika a genomika vyhľadáva tieto gény a ich využitie. K ich odhaleniu prispeje rozvoj metód, ktoré pomôžu rýchlo detekovať nemalé množstvo markerov. Konečnú odpoveď na dané otázky by však v budúcnosti mohlo poskytnúť kompletne odhalenie významu génov a ich regulačných oblastí po úplnom sekvenovaní genómu zvierat.

Z výsledkov mapovania ľudského genómu plynie, že vo vnútri ľudského genómu je 2,1 mil. polymorfizmov DNA (SNP), pričom dvaja ľudia sú navzájom odlišní menej ako v 1% svojich báz. Teoreticky by mohli takto existovať minimálne 2 milióny molekulárnych genetických markerov, pretože markerom môže byť každý jednotlivý bodový polymorfizmus. Vzhľadom na výskyt takého veľkého množstva polymorfizmov

a markerov sa vývoj metód v súčasnosti zameriava na veľkoobjemové automatizované metódy skreeningu.

Metódy molekulárnej genetiky sa aplikujú najmä v dvoch smeroch. Aplikácia je v testovaní molekulárne genetických markerov (mapovanie génov a QTL, asociačné štúdie) a v štúdiu exprese genetickej informácie.

Existencia polymorfizmu na úrovni DNA je základný predpoklad pre existenciu molekulárnych genetických (DNA) markerov. Medzi typické vlastnosti týchto markerov patria:

- na špecifickom fyzickom mieste genómu (lokuse) sú tvorené sekvenciami báz, medzi jedincami sú tieto sekvencie variabilné
- vykazujú kodominantnú dedičnosť a sú testovateľné exaktne
- môžu ale nemusia byť časťou génu
- možno ich hodnotiť už na úrovni zárodočného vývoja alebo aj zárodočných buniek a nie je nutné čakať až na prejav fenotypu v dospelom jedinci- možnosť zachytenia najvyššieho stupňa genetickej variability (na úrovni proteínov sa prejaví len cca 1/3 polymorfizmu)

V klasickej genetike má každý gén jeden lokus, v molekulárnej genetike je možné aby mal každý gén veľa lokusov, pretože z pohľadu molekulárnej genetiky má každá špecifická mutácia alebo polymorfizmus v danom géne svoje umiestnenie (lokus).

Markery sa hlavne využívajú pri tvorbe genetických máp, pri vysvetlení vzťahov ich polymorfizmu k rozdielom v úžitkovosti, pričom veľké mutácie sú väčšinou škodlivé, malé mutácie môžu byť aj prospešné a najčastejší je tzv. neutrálny polymorfizmus, ktorý sa neprejavuje.

Molekulárnych genetických markerov využíva odbor DNA diagnostika. Tá sa zaoberá stanovením variant DNA na základe jej bodového alebo repetitívneho polymorfizmu. DNA diagnostika detekuje rozdielne typy polymorfizmu, či už slúži k určovaniu rodičovstva u zvierat, overovaniu pravosti odrôd u rastlín, určovaniu alelických variant génov, ktoré sú využiteľné v šľachtiteľskej praxi alebo určujú ochorenia, poruchy či náchylnosti k nim, k detekcii nežiaducich mutácií, stanoveniu prítomnosti živočíšnych alebo rastlinných patogénnych organizmov a novo i k detekcie geneticky modifikovaných produktov.

Genetické testovanie zahŕňa metódy testovania DNA zvierat pre určitú vlastnosť. Mnoho testov sa už využíva v praxi. Niektoré testy sú patentované a ich využitie je tak

obmedzené. Medzi príklady genetických testov patrí halotanový test (HAL, RYR1, CRC) pre stres u ošípaných, ESR test pre veľkosť vrhu u prasníc, RN gén test pre kvalitu mäsa u ošípaných, MYST pre dvojité osvalenie u hovädzieho dobytká. (KNOLL, URBAN, 2002)

### 3.2.2 MIKROSATELITY

Mikrosatelity (syn. STR, SSR) sú krátke tandemové repetície zložené z mono-, di-, tri- alebo tetranukleotidových motívov. Vyskytujú sa vo všetkých eukaryotických genómoch, ale ich funkcia je stále diskutabilná. Významnou vlastnosťou je vysoký stupeň polymorfizmu spôsobený variabilným počtom tandemových repetícií (obvykle 10-30). Najčastejšie sa vyskytujúce repetície u cicavcov je motív (AC)<sub>n</sub>. Polymorfizmus mikrosatelitov môže byť rýchlo a spoľahlivo testovaný pomocou PCR a PAGE. Preto sú mikrosatelity vhodnými markermi pre väzbové mapovanie génov a štúdium diverzity vrátane určovania otcovstva (paternity) a rodičovstvo (parentity). (KNOLL, VYKOUKALOVÁ, 2002)

### 3.2.3 JEDNONUKLETODÍDOVÉ POLYMORFISMY

SNP sú bodové mutácie. Niektoré môžu byť detekované ako RFLP. V prípade, že neexistuje rozpoznávacie miesto pre restriktázu, je možné k detekcii použiť DGGE alebo SSCP, prípadne iba sekvencovanie. Zväčša to sú bialelické markery. (KNOLL, VYKOUKALOVÁ, 2002)

### 3.2.4 PREHĽAD NAJPOUŽÍVANEJŠÍCH METOD

#### 3.2.4.1 PCR-RFLP

PCR-RFLP je jednoduchá a dobre reprodukovateľná metóda založená na sekvenčnej špecificke reštrikčných endonukleáz. Niekedy je nazývaná ako CAPS. (KNOLL, URBAN, 2002)

#### 3.2.4.2 SSCP

SSCP bol popísaný v roku 1989. Vzorka (produkt PCR) sa nanáša po denaturácii na nenedenuračný polyakrylamidový gél a elektroforéza beží za konštantnej teploty. Jednoreťazcová DNA v tomto prostredí získava v závislosti na zložení nukleotidov určitú špecifickú konformáciu, ktorá ovplyvňuje mobilitu DNA v géle. To umožňuje



separáciu vlákien DNA líšiacich sa jedným alebo viacerými nukleotidmi. (KNOLL,URBAN, 2002)

#### **3.2.4.3 RAPD**

RAPD rovnako ako podobná metóda označovaná AP-PCR, je metóda pre tvorbu genomového fingerprintu u druhov, kde je málo známe o sekvencii, ktorú budeme amplifikovať. K zahájeniu PCR sa používať krátky málo špecifický oligonukleotid (zvyčajne 10NT), ktorý sa viaže na príslušné miesta amplifikovanej DNA. Jednotliví jedinci (populácie) sa odlišujú prítomnosťou jednotlivých fragmentov, podľa toho, kde na DNA primer našiel homologické miesta. Metóda umožňuje detekovať veľké množstvo polymorfizmu, a preto RAPD môžu byť genetickými markermi pre tvorbu genetických máp, mapovanie QTL, fingerprinting, meranie genetických vzdialeností medzi populáciami atp., ale lokalizácia SNP zostáva neznáma. (KNOLL,URBAN, 2002)

#### **3.2.4.4 DGGE**

DGGE je metóda pre detekciu jednonukleotidových zámien v DNA. Nedenaturované fragmenty DNA o veľkosti 150-1000 bp sa separujú v gélu nielen na základe svojej veľkosti, ale aj svojej teploty topenia. Separácia fragmentov je založená na rozdielnej mobilite fragmentov pri rôznom stupni denaturácie dvojitej DNA špirály za konštantnej teploty gélu. Molekula s obsahom páru báze o nižšiu energiu je skor čiastočne denaturovaná a tým sa aj pohybuje v géle pomalšie ako DNA so stabilnejším párom báz. Preto táto metóda umožňuje detekovať aj zámieny jedného páru bázy (SNP). Odvodená metóda je CDGE, kedy nie je potrebné pripravovať gradient, pretože koncentrácia denaturátu je optimalizovaná pre separáciu daných fragmentov. Okrem denaturačných činidiel možno čiastočné alebo úplné denaturácie molekuly DNA dosiahnuť teplotou a tak boli zavedené metódy založené na teplotnom gradiente (TGGE a TTGE). (KNOLL,URBAN, 2002)

#### **3.2.4.5 AFLP**

AFLP je založená na detekcii DNA reštrikčných fragmentov pomocou PCR amplifikácie. Amplifikácia reštrikčných fragmentov prebieha pomocou ligácie ds adaptorových sekvencií na koniec reštrikčného miesta, čo slúži ako "univerzálne" väzobné miesto pre primery pri PCR. (KNOLL,URBAN, 2002) V užšom slova zmysle je označenie AFLP používané tiež pre jednu z metód, ktorá využíva selektívnu amplifikáciu súborov fragmentov DNA vytvoreného štiepením reštrikčnými

endonukleázami. Stanovenie AFLP je vhodné pre účely porovnávania typizácie celkových genómových DNA a spravidla nevyžaduje znalosti sekvencie pre hybridizáciu univerzálnych primerov. (ŠMARDA et al., 2005)

#### **3.2.4.6 Sekvencovanie**

Sekvencovanie je prístup pre priamu identifikáciu SNP pomocou stanovenia sekvencie úseku DNA. Prístroje - automatické sekvenátory sú schopné zároveň detekovať aj polymorfizmus (detekcia heterozygotov). Sekvencovanie DNA v oblasti identifikácie polymorfných markerov je relatívne málo účinné (v porovnaní s RAPD), pretože na každú kilobázi pripadá iba 0,5-2 SNP. Veľkou výhodou je však schopnosť presnej identifikácie polymorfného miesta. Účinnosť sekvenovania sa zvyšuje v spojení s PCR-RFLP, SSCP a DGGE. (KNOLL, URBAN, 2002)

#### **3.2.4.7 Pyrosekvencovanie**

Pyrosekvencovanie alebo tiež sekvencovanie pri syntéze je sekvencovanie v reálnom čase, bez nutnosti použitia gélovej elektroforézy a prebieha paralelne (96 vzoriek súčasne). Využíva sa pre detekciu mutácie (SNP) i kvantitatívne stanovenie - odhad frekvencie alel (DNA pooling samples). (KNOLL, URBAN, 2002)

#### **3.2.4.8 PCR v reálnom čase**

PCR v reálnom čase (real-time PCR) je moderná metóda umožňujúca sledovanie priebehu polymerázovej reťazovej reakcie v reálnom čase na základe sledovaní intenzity fluorescenčného signálu. Používa sa pre

- a) kvantitatívne PCR v reálnom čase - pre kvantifikáciu genómovej DNA (napr. vírusy, GMO) alebo mRNA (štúdium expresie)
- b) pre analýzu bodu topenia produktu (melting analysis) - pre overenie identity a kvality produktu (amplifikátu)
- c) pre genotypizáciu - priame stanovenie genotypu (pomocou analýzy bodu topenia alebo hybridizačného systému). Technika môže byť plne automatizovaná, ale vyžaduje nákladné zariadenie. (KNOLL, URBAN, 2002)

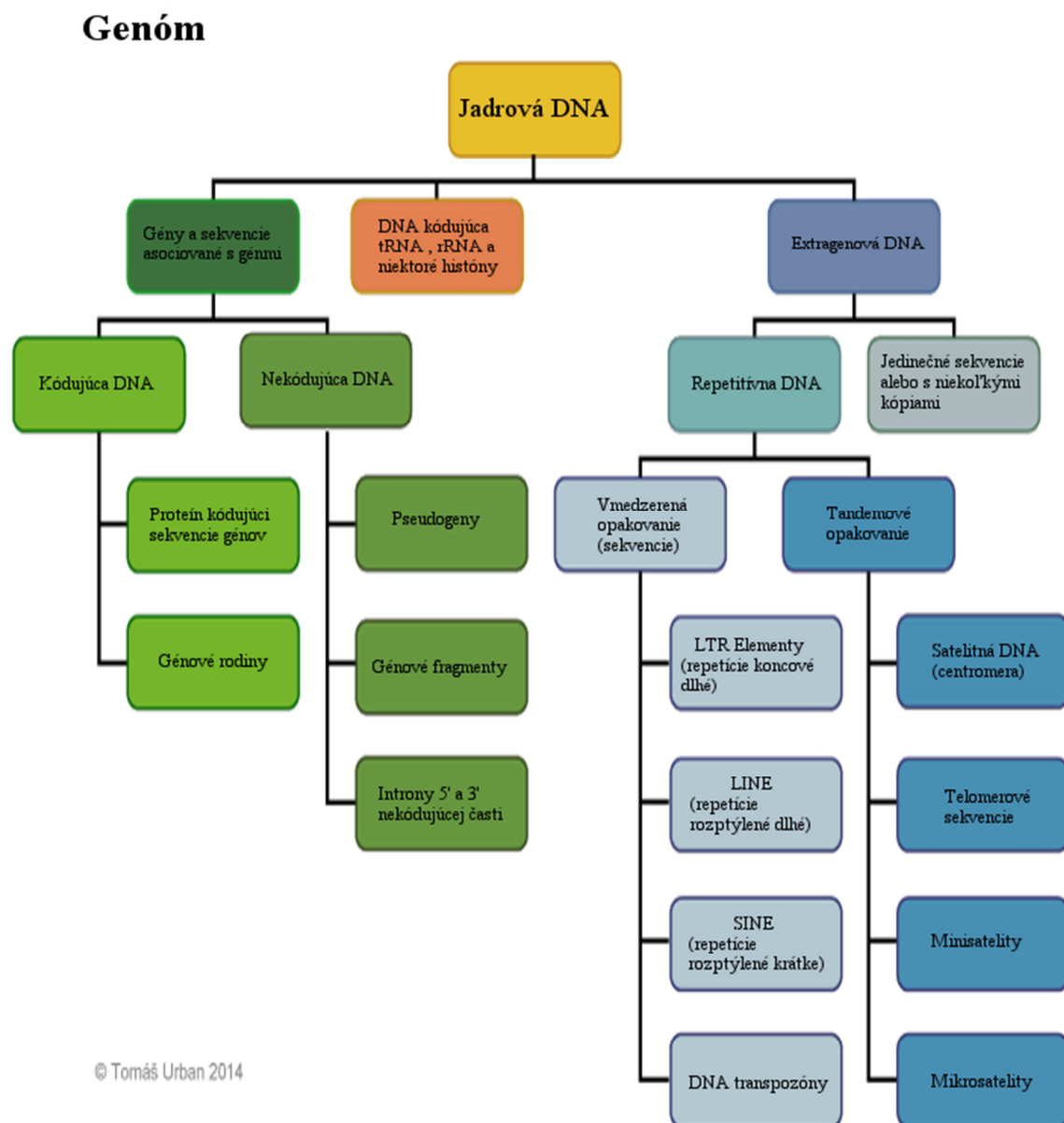
#### **3.2.4.9 DNA array**

DNA array (DNA chips, biochips atp.). Viz. kapitola č. 3.3.4

### 3.3 APLIKACIA GENETIKY V ZUŠLACHTOVANÍ POPULÁCIÍ

#### 3.3.1 CHARAKTERIZÁCIA GENÓMU HOSPODÁRSKÝCH ZVIERAT

Genóm (Obr. č. 3) môžeme definovať tromi definíciami: V prvom prípade ho môžeme chápať ako kompletnú sekvenciu DNA, obsahujúca kompletnú genetickú informáciu uloženú v chromozómoch jedinca alebo druhu. V druhom prípade ako celý genetický materiál v chromozómoch konkrétneho organizmu; jeho veľkosť je všeobecne daná ako celkový súčet párov báz. V poslednom prípade ako všetku DNA obsiahnutú v organizme alebo bunke, ktorá zahŕňa chromozómy v jadre a DNA v mitochondriách. (URBAN, 2014)



Obrázok č. 3: Genóm (Zdroj: URBAN, 2014)

### 3.3.2 GENOM OVCI

Ovca domáca (*Ovis aries*) je dôležité hospodárske zviera. Toto zviera produkuje vlnu, ktorá má hospodársky význam na celom svete. Sekvencie genómu uľahčí identifikáciu génov, ktoré môžu poskytnúť vysvetlenie pre širokú škálu cicavcov a pomáhajú nám lepšie pochopiť genetický základ chorôb, ktoré sú rovnaké pre ľudí i ovce.

Genóm ovce (Obr. č. 4) domácej je zložený z 26 autozómov a dvoch pohlavných chromozómov.(NCBI, 2010)



Obrázok č.4: Genóm ovce (Zdroj: NCBI, 2010)

Medzi chromozómami hovädzieho dobytku a chromozómami ovce a kozy je veľká podobnosť. Koza a hovädzí dobytok majú tiež 60 chromozómov, ktoré sú z veľkej časti identické. Výnimkou tvoria iba pohlavne chromozómy X a Y. X chromozóm u kozy je akrocentrický a Y chromozóm je omnoho menší než u hovädzieho dobytku. (Tabuľka č.1)

Tabuľka č. 1: porovnanie prežúvavcov (Zdroj: URBAN, 2014)

Druh	Chromozómy 2n	Typ chromozómov	Počet mapovaných lokusov	Počet génov
Hovädzí dobytok ( <i>Bos taurus</i> )	60	Akrocentrické	4357	1558
Ovca ( <i>Ovis aries</i> )	54	3 metacentrické; 23 akrocentrických	1722	370
Koza ( <i>Capra hircus</i> )	60	Akrocentrické	731	271

Domestikované ovce majú  $2n = 54$  chromozómov, pričom kozy a hovädzí dobytok majú  $2n = 60$  chromozómov. Karyotyp domestikovanej ovce poukazuje, že došlo k trom Robertsonovým translokáciám, kedy ovčí chromozóm 1 (OAR) je ekvivalentom

chromozómov 1 a 3 u kozy (CHI) a hovädzieho dobytku (BTA), OAR 2 je ekvivalentom CHI/BTA 2 a 8 a OAR 3 je ekvivalentom CHI/BTA 5 a 11. Robertsonovou translokáciou sú čiastočné u prežúvavcov vrátane rodu *Ovis*, a počet chromozómov sa vyskytuje v rozmedzí  $2n = 52$  a  $2n = 58$  pre ďalších členov rodu *Ovis* (*Ovis nivicola*,  $2n = 52$ ; *Ovis ammon*  $2n = 56$ ; *Ovis vignei*  $2n = 58$ ). Naopak,  $2n = 60$  chromozómov je u všetkých členov rodu kôz.

Hoci dobytok a kozy majú rovnaký počet chromozómov, podobnú morfológiu, architektúra X chromozómu a OAR9 / CHI14, sú viac podobné medzi oviec a kozami, než s dobytkom. (URBAN, 2014)

### 3.3.3 STAV SEKVETOVANIA GENÓMU OVIEC

#### 3.3.3.1 Nukleotidové sekvencie génov a chromozómov

Konečnú precíznu štruktúrnu mapu špecifického génu alebo chromozómu predstavuje jej nukleotidová sekvencia, doplnená mapou všetkých nukleotidových zámen pozmeňujúcich funkciu génu alebo chromozómu. Pred rokom 1975 boli pokusy o sekvenovanie celých chromozómov len ťažko predstaviteľné - v najlepšom prípade by to predstavovalo namáhavú úlohu vyžadujúcu roky práce. Avšak koncom roka 1976 bol sekvenovaný celý 5386 nukleotidov dlhý chromozóm fága  $\Phi X174$ . Dnes je sekvenovanie rutinný laboratórny postup. Kompletné, alebo skoro kompletné nukleotidovej sekvencie genómov sú známe u viac ako 2000 vírusov a 1000 plazmidov, u približne 1500 chloroplastov a mitochondrií, u viac ako 700 baktérií a archeí a približne u 30 eukaryotov. Navyše je v plnom prúde sekvenovania ďalších 200 eukaryotických genómov a je známa sekvencia 99 percent euchromatinu v ľudskom genóme.

Naše dnešné schopnosť sekvenovať v podstate akúkoľvek molekulu DNA je výsledkom štyroch hlavných objavov. Najdôležitejším prielomom bol objav reštrikčných enzýmov a ich použitie pri príprave homogénnych vzoriek špecifických úsekov chromozómov. Ďalší veľký pokrok predstavovalo zdokonalenie metódy gélovej elektroforézy až do tej miery, že môžu byť rozdelené fragmenty DNA líšiac sa o dĺžku jedného nukleotidu. Rovnako tak dôležité boli metódy klonovania génov, ktoré uľahčujú prípravu veľkého množstva konkrétnych molekúl DNA. A konečne, vedci vynášali dva rôzne postupy, ktorými môžu byť stanovené nukleotidovej sekvencie DNA.

Obe metódy sekvenovania DNA sú závislé na vytvorení súboru fragmentov DNA, z ktorých všetky majú jediný spoločný začiatok (začínajú na presne rovnakom nukleotidu) a na druhom konci sú zakončené vo všetkých možných pozíciách (na všetkých následných nukleotidoch). Spoločným začiatkom je 5'-koniec sekvenačného primeru. 3'-koniec primeru obsahuje voľnú -OH skupinu, ktorá je miestom predlžovania reťazca DNA polymerázy. Tieto fragmenty sa potom separujú na základe dĺžky svojich reťazcov pomocou polyakrylamidové gélovej elektroforézy. V oboch prípadoch sa vykonávajú štyri oddelené biochemické reakcie súčasne, v každej z nich sa vytvára súbor fragmentov DNA zakončených jednou zo štyroch báz (A, G, C alebo T).

Prvá metóda, nazvaná Maxamova-Gilbertova po Allan Maxamovi a Walterovi Gilbertovi, ktorí ju vynali, využíva štyroch rôznych chemických reakcií k štiepeniu reťazcov DNA špecificky v mieste A, G, C alebo C + T. Táto metóda sa už dlho nepoužíva. Druhá metóda, vyvinutá Frederickom Sangerom a kolegami, využíva in vitro syntézy DNA v prítomnosti rádioaktívnych nukleotidov a špecifických terminátorov reťazcov a vytvára štyri súbory rádioaktívne značených fragmentov, z ktorých každý je zakončený A, G, C, respektíve T. (SNUSTAD, SIMMONS, 2009)

Donedávna sa tvorba referenčného genómu robila použitím samotnej Sangerovej sekvencie. Objav programov sekvencie novej generácie znamená, že referenčné genómy môžu obsahovať sekvenčné dáta generované z rozsahu sekvencujúcich programov, kde každý z nich má inú dĺžku sčítania, systematické predsudky a párovací charakteristiku.

International Sheep Genomics Consortium (ISGC) sa venuje experimentálne strategii za účelom postaviť koncepčný referenčný genóm ovce (*Ovis aries*). Jednotlivé aktivity ako generovanie dát, zhromažďovanie sekvencií a anotácii sú popísané spoločne s informáciami zaoberajúce sa kľúčovými výskumníkmi vykonávajúcimi prácu. Toto mieri k pestúnskej budúcej účasti od výskumnej komunity až po koordinovanej aktivity združenia. Toto zaručuje, že ISGC dodržiava štruktúru pre zdieľanie dát, nedávno ustanovenú v Toronte International Data Release Workshopu a poskytujúce inštrukcie pre dátové užívateľa. (ARCHIBALD et al., 2010)

V januári roku 2013 NCBI zverejnila anotáciu Release 100 *Ovis aries*. To je anotácia zostavy WGS z samčieho a samičieho ovčieho masového plemena Texel, ktorú predložila International Sheep Genome Consortium (ISGC). Táto anotácia obsahuje dve genetickej mapy, (SM4.7) a (CAB). (NCBI,2013)

### 3.3.3.2 Využitie v Austrálii

Vedci z CSIRO viedli medzinárodný vedecký tím na dokončenie sekvenovania, ktoré mohlo viesť k efektívnejším šľachtiacim stratégiám a novým prístupom ovčieho manažmentu v Austrálii a po celom svete. S cca miliónom oviec v Austrálii a biliónmi globálne, sekvenovanie genómu by mohlo mať masívny vplyv na dedinskú ekonomiku, pre ktorú sú ovce hlavným zdrojom mäsa, mlieka a vlnených produktov.

Dr. Brian Dalrymple so svojím tímom preskúmali kompletný genóm aby zistili, ktoré gény sú prítomné. V procese nazývanom anotácia génu, ktorý vyústil v pokrokové porozumenie zahrnutých génov v procese čo robí ovce unikátnymi zvieratami, takými aké sú. S ohľadom na dôležitosť vlnovej produkcie sa zamerali, ktoré gény boli pravdepodobne zahrnuté v produkcii vlny. Našli novú cestu pre metabolizmus lipidov v ovčej koži, ktorá by mohla zohrávať dôležitú úlohu v oboch prípadoch, rozvoji vlny a v efektívnej produkcii vosku z vlny (lanolínu). Iný kľúčový nález zo štúdie zahŕňajúci bachor, čo je modifikovaný žalúdok plný vitálnych mikroorganizmov pre trávenie ovčej stravy. Bachor je pre ovcu nevyhnutný ku konverzii ťažko stráviteľného rastlinného materiálu na zvierací proteín a líši sa od pravého žalúdka svojim drsným povrchom, bohatým na keratín, ktorý sa veľmi podobá koži. Veľa sa génov, ktoré sa normálne vyskytujú v koži sa tiež vyskytujú vo veľkom počte v bachore, ale bol nájdený počet nových génov, ktoré sú špecifické pre bachor, rovnako ako jeden, ktorý sa zdá že je prítomný vo väčšine cicavcov, ale vyskytuje sa len u prežúvavcov. Ovce sú tiež dôležitý biomedický model, predovšetkým v Austrálii a genomické zdroje zostavené tímom poskytnú silný podklad pre detailný prieskum podobností a rozdielov medzi ovcami a ľuďmi na molekulárnej úrovni a s nádejou povedie k zlepšeniu v liečbe pre mnoho ochorení ako napríklad sepsa a astma. (DALRYMPLE,2014)

### 3.3.4 GENETICKÉ MARKERY A TECHNOLOGIA DNA CHIPOV PRI APLIKÁCII MAS A GENOMICKEJ SELEKCIE U OVIEC

DNA Arrays sú najnovšie biotechnologické techniky využívajúce dvoch základných štruktúrnych vlastností dvoušroubovicové DNA: sekvenčné komplementarity a zloženie z dvoch reťazcov. Základom je hybridizácia značeného vzorky DNA (alebo RNA) k DNA o známej sekvencii, ktorá je umiestnená vo forme bodiek (spotov) na fóliách alebo sklíčkach. Výhodou prístupu je to, že je možné zároveň vykonávať túto

hybridizáciu na stovky až tisíce rôznych známych DNA a testovať tak veľké množstvo génov obsiahnutých vo vzorke.

Využitie metódy je pre:

- a) štúdium expresie génov
- b) pre detekciu SNP
- c) pre genotypizáciu

Podľa veľkosti sa rozlišujú mikro a makroarray. Postup analýzy:

- a) izolácia DNA alebo RNA
- b) značenie - tvorba špecifických sond
- c) hybridizácia,
- d) zber dát (CCD kamera)
- e) analýza pomocou softvéru

Aktívne biočipy (nano chips): Zvláštnym typom DNA array sú aktívne biočipy. Každá pracovná ploška prístroja je vodivo spojená so zdrojom napätia a tým možno ovládať jednak polaritu a výšku napätia, ale aj snímať jeho zmeny. To dáva možnosť lepšie riadiť hybridizáciu. Výhodou je, že čip je opakovane použiteľný, tj, vloženíím záporného napätia možno molekuly vzorky odstrániť, a to, že sa znížila doba hybernacie na niekoľko sekúnd. (KNOLL, URBAN, 2002)

OvineSNP50 predstavuje viac ako 54 241 rovnomerne rozostavaných sond, ktoré sa zameriavajú na SNPs a ponúka viac než dostatočnú SNP hustotu pre širokú genómovú asociačnú štúdiu a ďalšie aplikácie ako široký genómový výber, ustanovenie genetickej hodnoty, identifikáciu kvantitatívnej vlastnosti loci (miesta) a pomerné genetické štúdie.

BeadChip bol vytvorený v spolupráci s vedúcimi odborovými výskumníkmi z AgResearch, Baylor UCSC, CSIRO a USDA ako časti organizácie International Sheep Genomics Consortium. Predstavuje viac ako 54 241 rovnomerne rozostavaných sond, ktoré sa zameriavajú na jednotlivé nukleotidných polymorfizmy (SNPs). Viac ako 18 000 týchto ukazovateľov bolo objavených sekvencovaním znížených reprezentatívnych knižníc s Illumina Genome Analyzer Iix. Sada 600 SNPs bola identifikovaná konečným BAC sekvencovaním a overená Illumina GoldenGate Genotyping Assays niečo cez 403 zvierat z 23 plemien. Zostávajúce SNPs boli odvodené z koncepčného odborového genómu.

OvineSNP50 BeadChip poskytuje jednotné široké genómové pokrytie s odhadnutým ukazovateľom priemerne na 46kb. BeadChip je poháňaný Infinium HD



testu, ktorý poskytuje najvyššiu cenu volaní v tomto priemyselnom odvetví, umožňuje rozmiestnenie flexibilného obsahu, a umožňuje detekciu a meranie počtu kópií variácie. BeadChip ďalej znižuje experimentačnú premenlivosť umožnením skúmať až 12 vzoriek súčasne. Analyzačné jednotrubíčková príprava vzorky bez PCR alebo delegácie podstatne znižuje prácu a potenciálne chyby pri zaobchádzaní so vzorkou. (ILLUMINA, 2015)

### 3.3.5 METÓDY ODHADU GENOMICKEJ PLEMENNEJ HODNOTY

Pravidelné genetické hodnotenie zvierat je momentálne založené na predpovedi plemenných hodnôt metódou BLUP. Vďaka vedeckému pokroku je teraz prístupné zužitkovať aj údaje o zvieratách priamo uložené v ich DNA. V takomto prípade sa potom jedná o predpoveď genomických plemenných hodnôt. Pre dobrú pestovateľskú prácu je nutné poznať aj spoľahlivosť týchto genómových plemenných hodnôt. Predpoveď genómov plemenných hodnôt sa teraz zavádza do praxe a s týmito hodnotami by mala byť šľachtiteľom a chovateľom dodaná aj spoľahlivosť genómových plemenných hodnôt. Ako predpoveď genómových plemenných hodnôt tak aj odhad ich spoľahlivosti sú novou záležitosťou v rámci pravidelných hodnotení zvierat. (BAUER et al., 2014)

V obvyklých plemenných programoch malých prežúvavcov, sa k výberu rozhodnutia používajú iba rodokmeň a záznamy fenotypu, ale sa momentálne zvažujú aj možnosti zahrnutia genomické informácie. Zámerom štúdie bolo vyhodnotiť potenciálne prínosy genomového výberu na genetickom reťazci v dnešných koncepciách šľachtienia francúzskej ovce a kozy. Tradičné a genomické scenáre boli vymodelované s deterministickým metódami pre 3 šľachticné programy. Modely zahŕňali rozhodovacie premenné v súvislosti s kandidátmi samčieho výberu, testovacou kapacitou potomstva a ekonomickými váhami, ktoré boli optimalizované pre maximalizáciu ročného genetického zisku (AGG) mäsového programu šľachtienia oviec, ktorý vylepšil mäsovú vlastnosť dedivosti ( $h^2$ ) = 0,30 a materský znak z  $h^2$  = 0,09 a dojny šľachtici program kôz a oviec, ktorý vylepšil mliečnu vlastnosť z  $h^2$  = 0,30.

Hodnoty + - 0,20 genetickej korelácie medzi mäsovými a materskými znaky boli zvažované k štúdiu ich efektov na AGG. Výsledky ukázali, že súčasné tradičné šľachtiace programy poskytujú AGG o 0,095 genetickej smerodajnej odchýlky ( $\sigma$ ) pre mäso a 0,061  $\sigma_a$  pre materské znaky v šľachtení mäsa, ďalej 0,147  $\sigma_a$  a 0,120  $\sigma_a$  u oviec a kôz mliečnych plemien. Optimalizáciou rozhodných premenných AGG s tradičnými výberovými metódami sa zvýšilo na 0,139  $\sigma_a$  pre mäso a 0,096  $\sigma_a$  pre materské znaky v mäsových šľachtiacich programoch a ďalej na 0,174  $\sigma_a$  a 0,183  $\sigma_a$  v mliečnych ovčích a kozích šľachtiacich programoch. So stredne veľkou referenčnou populáciou ( $n_{ref}$ ) 2000 kusov, najlepšie genomické scenáre poskytnú AGG, ktoré bolo 17,9% vyššie než tradičné výberové metódy s optimalizovanými hodnotami rozhodných premenných spoločne pre mäso a materské znaky v šľachtení mäsa, 51,7% v ovčom

mlieku a 26,2% v kozom mlieku. Prevalencia genómových programov sa zvýšila s veľkosťou referenčnej populácie a genomický výber mal najlepšie výsledky keď  $n_{ref} > 1000$  kusov pre mliečne šľachtenie a  $n_{ref} > 2000$  kusov pre mäsové šľachtenia. Genetická korelácia medzi mäsom a materskými znakmi mala široký dosah na genetický zisk oboch znakov. Zmeny v AGG vďaka korelácie boli najvýznamnejšie pre nízko dedivé materské znaky. Ako všeobecné pravidlo, AGG bola zvýšená optimalizáciou výberových dizajnov a vrátane genomickej informácie.

AGG vo všetkých scenároch bola zvýšená optimalizáciou rozhodných premenných a vrátane genomickej informácie. Avšak, tieto výhody zostávajú technickými aspektmi. Takže peňažné vstupy a výstupy týchto výberových stratégií by mali zhodnotiť hlbšie štúdie. (SHUMBUSHO, 2013)

Od začiatku genetiky spolu koexistovali dve vedecké školy, jedna z nich hľadala faktory dedičnosti a tá druhá používala biometrické modely na štúdium vzťahov medzi príbuznými. S vývojom molekulárnej genetiky sa rozšírili možnosti objavovania génov, ktoré majú zjavný efekt na rysy. Niektoré gény s širokými alebo strednými efektmi boli nájdené vo zvieratách, hoci najbežnejším výsledkom bolo nájdenie ukazovateľov prepojených k týmto génom umožňujúce asistenciu výberových programov s ukazovateľmi. Keď bolo k dispozícii väčšie množstvo jednoduchých a lacných ukazovateľov, SNPs, nové možnosti boli otvorené len čo nepotrebovali prítomnosť génov širokého alebo stredného efektu, kontrolujúceho vlastnosť, pretože celý genóm bol skenovaný. Pri použití širšieho množstva SNPs nám umožňuje mať predpoveď šľachtickej hodnoty pri pôrode dosť presnú na to aby bola použitá v prípadoch ako pri mliečnom dobytku k zníženiu generačného intervalu. V ostatných programoch šľachtenia zvierat, je implementácia genomického výberu menej zrejmá a teda spôsob, v ktorom môže byť užitočná by mal byť starostlivo preštudovaný. Potreba pre široké populácie pre asociovanie fenotypických dát a ukazovateľov, plus potreba pre neustále opakovanie procesu v niektorých prípadoch aplikácii komplikuje. Implementácia informácie poskytnuté SNPs v súčasných genetických programoch viedla k rozvoju komplexných štatistických nástrojov, pripájajúce sa k úsiliu dvoch škôl, faktorické a biometrické, ktoré dnes pracujú v úzkej príbuznosti. (BLASCO, TORO, 2014)

Genomická predpoveď genotypovaných jednotlivcov uplatňuje odhady efektov alel v mnohých centrách k predpovedi výkonu. Odhady alelových substitučných efektov sú zvyčajne získané z mnohonásobnej regresie lineárnych modelov. V týchto modeloch,

alelové substitučné efekty majú sklon byť obsluhované ako náhodné efekty, ktoré zrážajú svoje odhady v porovnaní s obsluhou ako pevné efekty. V tomto úsilí môže byť použitý počet alternatívnych modelov, ktoré sa nepatrne líšia. Bayesianové prístupy, ktoré využívajú Markovov reťaz metód Monte Carlo, ktoré opakovane berú vzorky alelových substitučných efektov sú široko používané, aby týmto modelom pasovali. Genomická predpoveď negenotypovaných jednotlivcov používa predpovedaný ukazovateľ genotypov negenotypovaných jednotlivcov rovnako ako kovariačná informácie založená na plemenných vzťahoch. Genomická prediktívna metodika však pokračuje vo vývoji, reprezentujúce zlúčenie prístupov. (GARRICK et al., 2014)

## 4 ZÁVER

V stredne veľkej populácii ( $n_{\text{ref}}$ ) 2000 kusov bol ročný genetický zisk o 17,9% vyšší než pri výbere tradičných metód s optimalizovanými premennými hodnotami, ktoré rozhodovali spoločne pre mäso a materské znaky v šľachtení mäsa, 51,7% v ovčom mlieku a 26,2% v kozím mlieku. Prevalha genómových programov sa zvýšila s veľkosťou referenčnej populácie a genomický výber mal najlepšie výsledky keď  $n_{\text{ref}} > 1000$  kusov pre mliečne šľachtenie a  $n_{\text{ref}} > 2000$  kusov pre mäsové šľachtenia, preto selekcia podľa genomického výberu sa úspešne používa v populáciách s veľkým počtom jedincov. Táto selekcia má vyššie uplatnenie pre hovädzí dobytok, keďže je v Českej a Slovenskej republike početnejší ako ovce. Uplatnenie genomického výberu na populáciu oviec pravdepodobne nebude mať až taký žiaduci efekt. Efektívne je to v štátoch s vyšším počtom jedincov v populácii, ako napríklad v Austrálii, kde prebiehajú výskumy. Avšak až zavedenie genomického výberu do praxe ukáže výnosnosť investovaného úsilia a finančných prostriedkov do týchto výskumov.

## 5 PREHLAD POUŽITEJ LITERATURY

- ARCHIBALD A.L., COCKETT N.E., DALRYMPLE B.P., FARAUT T., KIJAS J.W., MADDOX J.F., MCEWAN J.C., HUTTON ODDY V., RAADSMA H.W., WADE C., WANG J., XUN X., 2010: The sheep genome reference sequence: a work in progress. In: *Animal Genetics.*, vol. 41, issue 5, s. 449-453. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2010.02100.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2052.2010.02100.x>
- BAUER J., VOSTRÝ L., PŘIBYL J., 2014: *Odhad spolehlivosti jednokrokových genomických plemenných hodnot pro dojený skot: certifiková metodika*. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, 28 s. ISBN 978-80-7403-120-5.
- BAUER BLASCO A., TORO M.A., 2014: A short critical history of the application of genomics to animal breeding. *Livestock Science.* vol. 166, s. 4-9. DOI: 10.1016/j.livsci.2014.03.015.
- DALRYMPLE B., 2014: What's in the sheep genome? Wool see. [online]. [cit. 2015-04-25]. Dostupné z: <http://www.sheephapmap.org/csiro.pdf>
- GARRICK D., DEKKERS J., FERNANDO R., 2014: The evolution of methodologies for genomic prediction. *Livestock Science.* vol. 166, s. 10-18. DOI: 10.1016/j.livsci.2014.05.031.
- HORÁK F., 2012: *Chováme ovce*. Praha: Ve spolupráci se Svazem chovatelů ovcí a koz v ČR vydalo nakladatelství Brázda, 383 s. ISBN 978-80-209-0390-7.
- HORÁK F., 2004: *Ovce a jejich chov*. Praha: Ve spolupráci se Svazem chovatelů ovcí a koz v ČR vydalo nakladatelství Brázda, 303 s. ISBN 80-209-0328-3.
- ILLUMINA, 2015: OvineSNP50 DNA Analysis Kit. [online]. [cit. 2015-04-26]. Dostupné z: [http://www.illumina.com/products/ovinesnp50\\_dna\\_analysis\\_kit.html](http://www.illumina.com/products/ovinesnp50_dna_analysis_kit.html)
- KNOLL A., URBAN T., 2002: Aktuální metody používané v molekulární genetice zvířat. In: *Sb. XX Genetické dny*, Brno: MZLU, s. 31-36. ISBN 80-7157-607-7.
- KNOLL A., VYKOUKALOVÁ Z., 2002: *Molekulární genetika zvířat: (metody detekce polymorfizmů DNA genů)*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 100 s. ISBN 80-715-7616-6.
- NCBI, 2010: *Genome: Ovis aries*. [online]. [cit. 2015-04-20]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome?term=ovis%20aries>
- NCBI, 2013: *Genome: Ovis aries*. [online]. [cit. 2015-04-20]. Dostupné z: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map\\_search.cgi?taxid=9940&build=current&advsrch=off&query=condition+of+the+sheep+genome+sequencing](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map_search.cgi?taxid=9940&build=current&advsrch=off&query=condition+of+the+sheep+genome+sequencing)

- URBAN T., 2014: Genom. *Genetika zvířat* [online]., 28.7.2014 [cit. 2015-04-12].  
Dostupné z:  
[http://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1482](http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1482)
- SHUMBUSHO F., RAOUL J., ASTRUC J.M. PALHIERE I., ELSEN J.M., 2013: Potential benefits of genomic selection on genetic gain of small ruminant breeding programs. *Journal of Animal Science*. 2013-08-01, vol. 91, issue 8, s. 3644-3657. DOI: 10.2527/jas.2012-6205. Dostupné z:  
<http://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/abstracts/91/8/3644>
- SNUSTAD D., SIMMONS M.J., 2009: *Genetika*. Editor Jiřina Relichová. Překlad Anna Matalová. Brno: Masarykova univerzita, 2009, xxi, 871 s. ISBN 978-80-210-4852-2
- ŠMARD A. J., DOŠKAŘ J., PANTUČEK R., RŮŽIČKOVÁ V., KOPTÍKOVÁ J., 2005: *Metody molekulární biologie*. Brno: Masarykova univerzita, 188 s. ISBN 80-210-3841-1.

## 6 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

- AGG - Annual Genetic Gain (ročný genetický zisk)
- AFLP - Amplified Fragment Length Polymorphism (amplifikácia reštrikčných fragmentov polymorfizmu)
- AP-PCR - Arbitrarily Primed PCR (ľubovoľne založená PCR)
- ARQ - alela rozhodujúca o odolnosti voči klusavke
- ARR - alela rozhodujúca o odolnosti voči klusavke
- BLUP - Best Linear Unbiased Prediction (najlepšia lineára nevychýlená predpoveď)
- CAPS - Cleaved Amplified Polymorphic Sequence Analysis (štiepenie amplifikovanej polymorfnej sekvencie)
- CDGE - Constant Denaturant Gel Electrophoresis (gélová elektroforéza pri konštantnej koncentrácii denaturátu)
- CRC - synonymum k RYR génu
- DGGE - Denaturant Gradient Gel Electrophoresis (denaturačná gradientová gélová elektroforéza)
- DNA - deoxyribonukleová kyselina
- ESR - test pre veľkosť vrhu u prasníc
- Fec<sup>B</sup> - gén vysokej plodnosti
- GMO - geneticky modifikovaný organizmus
- HAL - gén citlivosti k halotalu, synonymum k RYR génu
- MAS - Marker Assisted Selection (selekcia s podporou markerov)
- mRNA - messenger RNA
- MYST - test pre dvojité osvalenie u hovädzieho dobytku
- PAGE - PRC-PAGE - Denaturing Polyacrylamide Gel Electrophoresis (denaturačná polyakrylamidová gélová elektroforéza)
- PCR - Polymerase Chain Reaction (polymerázová reťazová reakcia)
- PCR-RFLP - restriction fragment length polymorphism
- QTL - Quantitative Trait Loci (lokusy pre kvantitatívne vlastnosti)
- RAPD - Random Amplified Polymorphic DNA (náhodne amplifikovaná polymorfna DNA)
- RFLP - polymorfizmus dĺžky restričných fragmentov
- RN - gén ovplyvňujúci výťažnosť masa u ošípaných



RYR1 - ryanodine receptor 1 (ryanodinový receptor 1 pre kostrový sval), synonymum k RYR génu

SNP - Single Nucleotide Polymorphism (jendonukleotidový polymorfizmus)

SNPs - Single Nucleotide Polymorphism (jendonukleotidový polymorfizmus), synonymum SNP

SSCP - Single-Stranded Conformation Polymorphism (konformačný polymorfizmus jednoreťazcov)

SSR - Simple Sequence Repeat , synonymum STR

STR - Short Tandem Repeats (krátke tandemové repetície)

TGGE - Temperature Gradient Gel Electrophoresis (tepelná gradientová gélová elektroforéza)

TTGE - Temporal Temperature Gradient Gel Electrophoresis (časová tepelná gradientová gélová elektroforéza)

VRQ - alela rozhodujúca o odolnosti voči klusavke

WGS - Whole Genome Shotgun

