

Prohlášení

Diplomová práce s názvem „Polymorfismus vybraných enzymů jako faktor ovlivňující složení mléčného tuku“ (Polymorphism of some enzymes as factor affecting milk fat composition) nemůže být vložena do systému STAG vzhledem ke skutečnosti, že zveřejnění dat obsažených ve výše zmíněné práci v dubnu 2019 by bránilo publikování těchto dat ve vědeckém časopisu.

Diplomová práce bude v tištěné podobě k dispozici v Akademické knihovně JU.

Vedoucí diplomové práce

doc. Ing. Eva SAMKOVÁ, Ph.D.


.....

Autor diplomové práce

Bc. Martin Klojda


.....

V Českých Budějovicích, dne 16. 4. 2019

..

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Katedra potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů

Studijní program: N4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Zemědělské biotechnologie

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Polymorfismus vybraných enzymů jako faktor ovlivňující složení mléčného
tuku**

Autor diplomové práce: Bc. Martin Klojda

Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.

Konzultant diplomové práce: prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Martin KLOJDA**
Osobní číslo: **Z16347**
Studijní program: **N4101 Zemědělské inženýrství**
Studijní obor: **Zemědělské biotechnologie**
Název tématu: **Polymorfismus vybraných enzymů jako faktor ovlivňující složení mléčného tuku**
Zadávací katedra: **Katedra kvality zemědělských produktů**

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

Složení mléčného tuku je důležitým faktorem, ovlivňujícím nutriční, technologické a senzorní vlastnosti mléka. Odlišnosti v genovém polymorfismu některých enzymů se mohou podílet na odlišné desaturační aktivitě, a tím ovlivňovat zastoupení mastných kyselin.

Cílem diplomové práce bude genotypizace polymorfních variant vybraného kandidátního lokusu vybraných enzymů a vyhodnocení vlivu polymorfismu k zastoupení mastných kyselin mléčného tuku.

Diplomová práce bude vypracována v rámci projektů QJ1510336 a GAJU-002/2016/Z na základě pokynů (http://www.zf.jcu.cz/copy_of_students/informace-pro-studujici/dokumenty-studijniho-oddeleni/informace-pro-studujici/Jak_vypracovat_DP.pdf) a podle osnovy:

1. Úvod - stručná charakteristika a význam řešené problematiky včetně uvedení cílů práce
2. Literární přehled - přehled o faktorech ovlivňujících zastoupení mastných kyselin zaměřený zejména na genetické vlivy získaný studiem nejnovější vědecké a odborné literatury
3. Materiál a metodika - popis biologického materiálu, genotypizace a dalších analytických metod včetně metod statistických
4. Výsledky a diskuse - tabulkové a grafické zpracování získaných dat, jejich statistické vyhodnocení a porovnání s dostupnými literárními údaji
5. Závěr - stručné shrnutí výsledků, návrhy a doporučení vyplývající z řešené problematiky
6. Summary - přehled a nejdůležitější výsledky včetně klíčových slov (v anglickém jazyce)
7. Seznam literatury - jednotný, podle platných citačních zásad.

Rozsah grafických prací: 10 - 15 stran (tabulky, grafy)

Rozsah pracovní zprávy: 35 - 40 stran textu

Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:


- Kesek M. et al.: Genetic, physiological and nutritive factors affecting the fatty acid profile in cows' milk - a review. Anim. Sci. Pap. Rep., 2014, 32: 95-105.
- Li X. et al.: Joint genome-wide association study for milk fatty acid traits in Chinese and Danish Holstein populations. J. Dairy Sci., 2015, 98: 8152-8163.
- Yudin N.S. a Voevoda M.I. Molecular genetic markers of economically important traits in dairy cattle. Russ. J. Genet., 2015 51: 506-517.
- Databáze AGRIS, CAB Abstracts, Česká zemědělská a potravinářská bibliografie, aj., dostupné na: <http://www.lib.jcu.cz/>
- Vědecká a odborná periodika, příp. sborníky (Mlékařské listy, Náš chov, Výzkum v chovu skotu aj.)

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.**
Katedra kvality zemědělských produktů

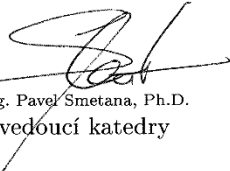
Konzultant diplomové práce: **prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.**
Katedra zootechnických věd

Datum zadání diplomové práce: **24. března 2017**

Termín odevzdání diplomové práce: **21. dubna 2018**


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

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentů 1990, 370 05 České Budějovice


Ing. Pavel Smetana, Ph.D.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 24. března 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou, 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.

V Českých Budějovicích dne 15. 4. 2019

Podpis studenta

Chtěl bych tímto poděkovat paní doc. Ing. Samkové, Ph.D. za pomoc a odborné vedení při zpracování mé diplomové práce a taktéž bych rád poděkoval panu prof. Ing. Čítkovi, CSc. za veškeré odborné rady a připomínky.

Diplomová práce byla zpracována s podporou Ministerstva zemědělství ČR (NAZV KUS QJ1510336) a Grantové agentury Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (GAJU 028/2019/Z).

ABSTRAKT

Cílem této práce bylo stanovit zastoupení genotypů pro polymorfismus g.10329C>T (A293V) v populaci, vyhodnotit vliv genotypu na základní užitkové parametry mléka a též na zastoupení mastných kyselin. Nejprve byly zjištěny alelové a genotypové frekvence v rámci populace. Následně byl hodnocen vliv tohoto lokusu na základní parametry mléčné užitkovosti a v další části bylo sledováno, jakým způsobem se odvíjí zastoupení mastných kyselin mléčného tuku od zjištěného genotypu. Pro genotypizaci bylo využito metody PCR/RFLP. V této práci se podařilo prokázat vliv polymorfismu g.10329C>T (A293V) jak na základní ukazatele mléčné užitkovosti, tak na složení mastných kyselin. Z práce tak vyplývá nejen možný ekonomický přínos pro chovatele, ale zároveň také možnost získat příznivější složení mléčného tuku s ohledem na zdraví nebo senzorické vlastnosti.

Klíčová slova: dojnice, mléčný tuk, mastné kyseliny, mléčná užitkovost, *SCD1*

ABSTRACT

The aim of this diploma thesis was to determine allele and genotype frequencies for g.10329C>T (A293V) polymorphism in the *SCD1* gene in dairy cow populations, establish effects of this locus on milk production traits and fatty acids composition. At first, allele and genotype frequencies were determined. Subsequently the effect of this polymorphism on milk production traits was proved and effects of this polymorphism were demonstrated as well. For the determination allele and genotype frequencies the PCR/RFLP technique was applied. In this diploma thesis the effect of polymorphism g.10329C>T (A293V) on milk production traits was demonstrated as well as the effects of this polymorphism on fatty acids composition. The findings following from this diploma thesis show economical and health benefits of this *SCD1* locus.

Keywords: dairy cows, milk fat, fatty acids, milk performance, *SCD1*

OBSAH

1	ÚVOD.....	9
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED	10
2.1	Charakteristika mléčného tuku.....	10
2.1.1	Charakteristika mastných kyselin	11
2.1.2	Syntéza mastných kyselin a mléčného tuku.....	13
2.2	Polymorfismy vybraných kandidátních genů pro parametry mléčné užitkovosti	14
2.2.1	Gen pro prolaktin (PRL)	15
2.2.2	Gen pro prolaktinový receptor (PRLR).....	16
2.2.3	Gen pro transkripční faktor STAT5A (STAT5A).....	16
2.2.4	Gen pro Acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferázu 1 (DGAT1).....	17
2.2.5	Gen pro stearoyl-CoA desaturázu 1 (SCD1).....	18
2.2.6	Gen pro syntázu mastných kyselin (FASN).....	19
2.2.7	Další geny související s mléčnou užitkovostí	20
3	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	27

1 ÚVOD

Mléčný tuk je tvořen v převážné míře triacylglyceroly, tj. estery trojsytného alkoholu glycerolu s mastnými kyselinami. Právě celkové spektrum mastných kyselin podmiňuje vlastnosti mléčného tuku. Přibližně 70 % mastných kyselin v mléčném tuku je tvořeno nasycenými mastnými kyselinami, zbylý podíl tvoří nenasycené mastné kyseliny - monoenoové s 25% podílem a polyenoové s přibližně 5% podílem. Kyseliny myristová a palmitová, které jsou hlavními zástupci nasycených mastných kyselin v mléce, jsou spojovány s navyšujícím účinkem na hladinu LDL cholesterolu v krvi spolu s vyšším rizikem kardiovaskulárních onemocnění. Z tohoto důvodu je zájem o změnu složení mléčného tuku ve prospěch nenasycených mastných kyselin.

Složení mléčného tuku je regulováno celou řadou genů. Vzhledem ke komplexnosti genetického založení pro kvantitativní znaky jsou vyhledávány tzv. kandidátní geny zapojené do syntetických, příp. metabolických drah dané kvantitativní vlastnosti. Genetické polymorfismy v těchto genech pak mohou tyto vlastnosti výrazně ovlivňovat. Významným kandidátním genem ovlivňujícím složení mléčného tuku je *SCD1*. Tento gen kóduje enzym stearoyl-CoA desaturázu 1, která zodpovídá za syntézu mononenasycených mastných kyselin.

Cílem diplomové práce bylo stanovit genotypy v genu *SCD1*, vyhodnotit výskyt polymorfních variant a vyhodnotit vliv polymorfismu k mléčné užitkovosti a zastoupení mastných kyselin mléčného tuku.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Charakteristika mléčného tuku

Lipidy zastávají v živých organismech celou řadu biologických funkcí (Samková a kol. 2012a). Mléčný tuk, respektive tuk obecně je významným zdrojem energie pro organismus (German a Dillard 2007). Zatímco kupříkladu 1 g sacharidů znamená energetický příjem přibližně $4,1 \text{ kcal} \cdot \text{g}^{-1}$ ($17,2 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}$) využitelné energie a stejný energetický příjem je obsažen i v 1 g proteinu, konzumace 1 g tuku představuje $9,3 \text{ kcal} \cdot \text{g}^{-1}$ ($38,9 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}$) využitelné energie (Samková a kol. 2012a).

Z chemického hlediska se lipidy rozdělují podle více kritérií. Na základě přítomných funkčních skupin se dělí na homolipidy, heterolipidy a lipidy komplexní. Lipidy, jejichž mastné kyseliny se váží pouze s alkoholy, se označují jako homolipidy. Pokud jsou na mastné kyseliny lipidů navázány kovalentní vazbou také jiné sloučeniny kromě alkoholu, označují se tyto látky jako heterolipidy. Patří sem například fosfolipidy s navázanou kyselinou fosforečnou nebo glykolipidy. Do třetí skupiny se řadí lipidy, které se po chemické stránce vyznačují všemi výše zmíněnými aspekty, ale vyskytují se zde navíc sloučeniny navázané nekovalentními vazbami, jako jsou hydrofobní interakce a vodíkové můstky. Lipidy se kromě výše zmíněného dělení rozdělují na základě chromatografické separace na lipidy polární a neutrální. Řada heterolipidů jsou zároveň polární lipidy (např. fosfolipidy) (Velíšek a Hajšlová 2009).

Tuk se v mléce vyskytuje v podobě emulze olejových kapének, které jsou vytvářeny na endoplazmatickém retikulu v buňkách mléčných alveol (Månsson 2008). Jádro těchto kapének je tvořeno triacylglyceroly, které mají nepolární charakter (Jensen a kol. 2002, Månsson 2008). Jejich povrch je však tvořen membránou sestávající z membránových proteinů a polárních lipidů, převážně fosfolipidů a dále cerebrosidů a cholesterolu (Månsson 2008). S pomocí membrány udržují jednotlivé kapénky svůj tvar. Rozměry těchto kapének se pohybují v rozsahu $0,1 - 10 \mu\text{m}$, nicméně značná část má průměrnou velikost $0,4 \mu\text{m}$ (Jensen 2002).

Většina mléčného tuku je tvořena triacylglyceroly. Dále se na skladbě mléčného tuku podílí přibližně 2 % diacylglyceroly, necelé 0,5 % tvoří monoacylglyceroly, 0,1 % fosfolipidy a přibližně 0,1 % volné mastné kyseliny (Månsson 2008). Triacylglyceroly jsou estery trojsytného alkoholu glycerolu a tří na něj navázaných molekul mastných kyselin (Lv a kol. 2018). Pozice jednotlivých mastných kyselin v rámci molekuly

triacylglycerolu není zcela náhodná. První pozici triacylglycerolu tvoří nejčastěji kyselina máselná (C4:0) nebo kapronová (C6:0). Mastné kyseliny o délkách řetězce C8:0 - C16:0 se nejčastěji nachází na 1., případně 2. pozici triacylglycerolu. Kyselina olejová (C18:1) se nejčastěji nachází na 1. nebo 3. pozici triacylglycerolu (Månsson 2008). Molekula diacylglycerolu je esterifikována pouze dvěmi mastnými kyselinami (Parodi a kol. 2004). Na celkovém spektru mastných kyselin v mléce se podílí ze 70 % nasycené mastné kyseliny (SFA), 25% tvoří mononenasycené mastné kyseliny (MUFA) a 5% polyenenasycené mastné kyseliny (PUFA) (Bastin a kol. 2011).

2.1.1 Charakteristika mastných kyselin

Mastné kyseliny se rozlišují podle délky uhlíkatého řetězce, tedy podle počtu uhlíků tvořící molekulu mastné kyseliny na mastné kyseliny s krátkým uhlíkatým řetězcem (C4 – C6), se středně dlouhým řetězcem (C8 - C12), s dlouhým řetězcem (C14 - C18), velmi dlouhým (C20 - C26) a ultra dlouhým řetězcem (C28 - C38) (Velíšek a Hajšlová 2009). Dále se u mastných kyselin zohledňuje přítomnost dvojných vazeb v molekule a případně počet těchto vazeb, jejich lokace a také konformace. Podle konformace se rozlišují polohy *cis* a *trans*. Nasycené (SFA, SAFA, saturated fatty acids) mastné kyseliny jsou lineární molekuly s jednoduchými vazbami. Z výživového hlediska jsou v rámci těchto kyselin středem pozornosti zejména kyseliny laurová (C12:0), myristová (C14:0) a palmitová (C16:0). Tyto mastné kyseliny totiž vykazují navyšující účinek na hladinu LDL cholesterolu, který je asociován s některými civilizačními chorobami jakými jsou obezita a kardiovaskulární onemocnění (Pilarczyk a kol. 2015).

Jako monoenové mastné kyseliny (MUFA, monounsaturated fatty acids) se označují nenasyčené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou. MUFA se klasifikují dle délky uhlíkatého řetězce, polohou dvojně vazby a prostorovou konfigurací. Do této skupiny patří například kyselina olejová (C18:1n-9), která z této skupiny v mléčném tuku převažuje.

Důležitý nutriční vliv mají též polyenové mastné kyseliny (PUFA, polyunsaturated fatty acids). PUFA jsou nenasyčenými mastnými kyselinami se dvěma a více dvojnými vazbami. Významným zástupcem z této skupiny je kyselina linolová (C18:2n-6). Tyto mastné kyseliny se opět rozlišují podle polohy dvojných vazeb a jejich konformací. Do této skupiny řadíme pro organismus velmi podstatné skupiny omega-3 a omega-6 mastné kyseliny. Tyto dvě skupiny se od sebe liší polohou první dvojně vazby

nacházející se na 3. případně 6. uhlíku směrem od methylové skupiny. Mezi těmito skupinami najdeme esenciální mastné kyseliny, které organismus potřebuje, a nedokáže je syntetizovat. Z toho důvodu je zapotřebí dodávat organismu esenciální mastné kyseliny přímo v potravě (Velíšek a Hajšlová 2009). Označování významných mastných kyselin mléčného tuku je uvedeno v tabulce 1.

Tab. 1: Významné mastné kyseliny mléčného tuku (Samková a kol. 2012a)

Nasycené mastné kyseliny (SFA)		
počet uhlíků a lokace vazby	triviální název	chemický název
C4:0	máselná	butanová
C6:0	kapronová	hexanová
C8:0	kaprylová	oktanová
C10:0	kaprinová	dekanová
C12:0	laurová	dodeková
C14:0	myristová	tetradeková
C16:0	palmitová	hexadeková
C:18:0	stearová	oktadeková
Monoenové nenasycené mastné kyseliny (MUFA)		
C14:1n-5	myristolejová	10- <i>cis</i> -tetradecenová
C16:1n-7	palmitolejová	10- <i>cis</i> -hexadecenová
C18:1n-9	olejová	10- <i>cis</i> -oktadecenová
C18:1n-9	elaidová	10- <i>trans</i> -oktadecenová
C:18:1n-7	vakcenová (VA)	12- <i>trans</i> -oktadecenová
Polyenové nenasycené mastné kyseliny (PUFA)		
C18:2n-7	rumenová (RA)	9- <i>cis</i> , 11- <i>trans</i> -oktadekadienová
n-6 polyenové nenasycené mastné kyseliny (omega 6)		
C18:2n-6	linolová (LA)	9- <i>cis</i> , 12- <i>cis</i> -oktadekadienová
C18:3n-6	γ -linolenová	6,9,12- <i>all-cis</i> -oktadekatrienová
C20:4n-6	arachidonová	5,8,11,14- <i>all-cis</i> -eikosatetraenová
n-3 polyenové nenasycené mastné kyseliny (omega 3)		
C18:2n-7	α -linolenová (ALA)	9,12,15- <i>all-cis</i> -oktadekatrienová
C20:5n-3	timnodonová (EPA)	5,8,11,14,17- <i>all-cis</i> -eikosapentaenová
C22:6n-3	cervonová (DHA)	4,7,10,13,16,19- <i>all-cis</i> -dokosahexaenová

2.1.2 Syntéza mastných kyselin a mléčného tuku

Skladba mastných kyselin se kromě genetických faktorů, odvíjí např. od složení krmné dávky, věku a zdravotního stavu dojnice, a dále se zastoupení mastných kyselin liší i v závislosti na pořadí a stadiu laktace (Moioli a kol. 2007). Mastné kyseliny mléčného tuku pocházející z krmné dávky, vznikají jako produkty bachorové mikroflóry případně jsou syntetizovány *de novo* (Månsson 2008). Významnou roli v zastoupení mastných kyselin mléčného tuku hraje rovněž proces syntézy. Mikrobiologickou fermentací v bachoru vznikají kromě dalších látek tzv. těkavé mastné kyseliny, které kryjí značnou část energetické potřeby organismu dojnice (Jensen 2002, Tagang a kol. 2010). Mezi stěžejní těkavé mastné kyseliny patří kyselina octová, propionová a máselná ve formě acetátu, propionátu a β -hydroxybutyrátu, který je syntetizován z kyseliny máselné v bachorové tkáni (Månsson 2008). Ze zmíněných těkavých mastných kyselin zpravidla převažuje syntéza acetátu (55 - 70 %), dále propionátu (15 - 30 %) a β -hydroxybutyrátu (5 - 15 %) (Wasielewska a Zygmunt 2015). Poměry jednotlivých složek jsou dány aktuálním složením bachorové mikroflóry, kterou lze ovlivňovat skladbou krmiva (Hanuš a kol. 2018). Propionát je prekurzorem pro syntézu glukózy, která je nezbytná pro syntézu laktózy (Tagang a kol. 2010). Pro syntézu laktózy je v mléčné žláze utilizováno přibližně 60 - 70 % glukózy (Weikard a kol. 2005). Oproti tomu acetát a v menší míře β -hydroxybutyrát jsou v mléčné žláze prekurzory pro zahájení syntézy mastných kyselin *de novo* (Liu a kol. 2017). Jedná se především o mastné kyseliny s kratší délkou uhlíkatého řetězce (C4:0 - C14:0) jejichž zdrojem v mléčném tuku je právě *de novo* syntéza a dále přibližně 50 % kyseliny palmitové (Samková a kol. 2012a). Přibližně 40 - 50 % z celkového spektra mastných kyselin v kravském mléce pochází ze syntézy *de novo* (Carvajal a kol. 2016). Mastné kyseliny s delším řetězcem se do mléka dostávají převážně z krmné dávky a tukových zásob (Rudolph a kol. 2010).

Vlivem činnosti bachorové mikroflóry dochází k hydrogenaci (respektive biohydrogenaci) MUFA a PUFA přijatých v krmivu. Touto modifikací dochází ke konformačním změnám v řetězci těchto mastných kyselin vedoucí k tvorbě *trans* mastných kyselin podílejících se na skladbě mléka. Mnoho *cis* a *trans* izomerů vychází z kyseliny olejové (Pérez a Garnsworthy 2013). Pro některé z takto modifikovaných mastných kyselin byl prokázán příznivý zdravotní efekt (Velíšek a Hajšlová 2009). Jako zdravotně významná se prokázala konjugovaná kyselina linolová (CLA) (Kalač

a Samková 2010). CLA vzniká mimo jiné činností enzymu stearoyl - CoA desaturázy v mléčné žláze utilizací kyseliny vakcenové (*trans*-11-C18:1), která je produktem bachorové hydrogenace. Prekurzorem pro syntézu kyseliny vakcenové v bachoru jsou kyseliny linolová a linolenová (Samková a kol. 2012b, Kulig a kol. 2013).

2.2 Polymorfismy vybraných kandidátních genů pro parametry mléčné užitkovosti

Složení mléčného tuku je ovlivňováno mnoha faktory, které lze obecně rozdělit na genetické a prostřední. Na genetickém založení kvantitativních znaků zahrnující složení a nutriční skladbu mléčného tuku se podílí celá řada genů rozprostřených napříč genomem (Kala a kol. 2016). Šlechtitelské postupy vedoucí ke zlepšování kvantitativních vlastností tak vychází především z hodnot naměřených v rámci velké populace včetně hodnot příbuzných jedinců a potomstva (Żukiewicz a kol. 2012). Z těchto důvodů jsou vyhledávány tzv. kandidátní geny, které mohou být s užitkovými vlastnostmi prokazatelně asociovány (Blecha a kol. 2015). Kandidátní geny zasahují do syntetických případně metabolických drah pro užitkovou vlastnost. Již bylo odhaleno několik kandidátních genů, které mají vliv na podíl a složení mléčného tuku (Matsumoto a kol. 2012). Mezi velmi významné kandidátní geny ve vztahu k mléčnému tuku se řadí gen pro acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferázu (*DGATI*) a stearoyl-CoA desaturázu (*SCDI*). Popsané polymorfismy v těchto genech (K232A pro *DGATI* a A293V pro *SCDI*) mají totiž na složení mléčného tuku výrazný vliv (Bouwman a kol. 2011).

V roce 2007 byl kompletně osekvenován genom skotu. Následně bylo odhaleno přibližně 22 700 genů a 2 miliony jednonukleotidových polymorfismů (SNP). Nicméně pouze zlomek těchto polymorfismů se podílí na fenotypovém projevu a pokud se projevují, pak často se zanedbatelnou signifikancí. Mnoho z těchto polymorfismů vykazuje průkazný efekt pouze v rámci malé populace. Pro potřeby genomové selekce je proto důležité vyhledávat univerzální genové markery (Żukiewicz a kol. 2012).

Genetickým markerem je v tomto případě alela dobře popsaného polymorfismu, která byla asociována s příznivým vlivem na užitkovou vlastnost. K detekci žádoucích alel je využíváno molekulárně biologických metod. Přítomností "příznivé" alely lze předpokládat zlepšující efekt QTL (quantitative trait loci) a zvýšení přesnosti selekce.

QTL jsou úseky na chromozomu, pro které byl prokázán vliv na užitkové vlastnosti. Vyhledávání těchto úseků je klíčové při hledání nových kandidátních genů. Je popsáno již mnoho kandidátních genů ovlivňujících výtěžek i kvalitativní vlastnosti mléka (Mohammed a kol. 2015). Na genetickém založení pro vlastnosti a zastoupení mléčného tuku v mléce se nejvíce podílí QTL identifikované na 14., 19., a 26. chromozomu. Právě na těchto chromozomech je lokalizováno mnoho kandidátních genů, jejichž produkty jsou součástí metabolických drah spjatých se syntézou či metabolismem lipidů (Bouwman a kol. 2011).

2.2.1 Gen pro prolaktin (PRL)

Prolaktin je hormon vylučovaný hypofýzou, plnící v organismu mnoho funkcí skrze buněčnou signální dráhu JAK2/STAT (Brym a kol. 2005, Lu a kol. 2011, Patel a Chauhan 2017). Z hlediska mléčné produkce se jedná především o hormon zahajující mléčnou sekreci, kterou nadále řídí po celou dobu laktace (Lü a kol. 2010). Gen *PRL* kódující prolaktin tak řídí syntézu hlavních složek mléka a kompletně ovlivňuje genovou expresi mléčných proteinů včetně jejich transkripce, stabilizace mRNA molekul a dále jejich samotnou translaci včetně postranlačných úprav (Żukiewicz a kol. 2012). Gen *PRL* se nachází na 23. chromozomu a jeho velikost činí 10 kb. Sestává z 5 exonů a 4 intronů a výsledný protein je tvořen 199 aminokyselinami (Alfonso a kol. 2012, Lü a kol. 2010). Ve 4. exonu byl lokalizován polymorfismus g.8398G>A. Tento polymorfismus byl spojen s vlivem na mléčnou užitkovost za období 1. laktace. Příznivý účinek byl spojen s genotypem *AG*, který oproti homozygotnímu genotypu *GG* vykazoval průměrný rozdíl v mléčné užitkovosti 557 kg. Oproti tomu genotyp *GG* vykazoval navyšující účinek na podíl mléčného tuku, který v průměru tvořil rozdíl 0.25% (Brym a kol. 2005). Také byl prokázán vliv tohoto polymorfismu na obsah kyseliny kaprinové (C10:0) a lauroolejové (C12:1) v mléce (Schennink a kol. 2009). Mezi další významné polymorfismy spadají -402A>G a -1043A>G nacházející se v oblasti promotoru. U polymorfismu -402A>G byl pozorován příznivý vliv genotypu *GG*, který vedl ke zvýšení mléčné užitkovosti v první laktaci o 516,9 kg a o 522 kg v laktaci druhé. Genotyp *AA* byl však asociován s vyšším podílem mléčného tuku v mléce, který činil v 1. laktaci rozdíl 0,30 %. Ve druhé laktaci byl obsah tuku pro genotyp *AA* vyšší o 0,57 %. Dále byl pro polymorfismy -1043A>G a -402A>G zkoumán vliv haplotypů na užitkové vlastnosti mléka. Haplotyp *AG* vykazoval

navyšující účinek na mléčnou užitkovost a dále haplotyp *AA* navyšoval podíl mléčného tuku (Lü a kol. 2010).

2.2.2 Gen pro prolaktinový receptor (*PRLR*)

Prolaktin účinkuje díky interakci s prolaktinovým receptorem inkorporovaným v buněčné membráně. Gen *PRLR* kódující prolaktinový receptor se nachází se na 20. chromozomu a zahrnuje 10 exonů. Na 205. nukleotidu sekvence 9. intronu byl identifikován polymorfismus *A/C*, který vede k alternativnímu sestřihu. Alternativní sestřih umožňuje existenci dvou izoform proteinu sestávající z 557 aminokyselin, případně 272 aminokyselin (Lü a kol. 2011, Żukiewicz a kol. 2012).

V 10. exonu byly identifikovány dva SNP s příznivým vlivem na mléčnou užitkovost. Jedná se o polymorfismus *g.9206G>A* (také *E378K*) vedoucí k zařazení glutaminu případně lysinu na 378. pozici polypeptidového řetězce a dále polymorfismus *g.9681C>T* (též *A536V*) vedoucí k zařazení alaninu případně valinu na 536. pozici. Pro polymorfismus *g.9206G>A* byl významný efekt homozygotních genotypů *GG* a *CC* na mléčnou užitkovost oproti heterozygotní kombinaci *AG*. Rozdíl v mléčné užitkovosti se pohyboval okolo 600kg mléka za normovanou laktaci (305 dní). Heterozygotní kombinace *CT* pro polymorfismus *g.9681C>T* naznačovala možný navyšující účinek na množství mléčného tuku a proteinu avšak statistická průkaznost nebyla dostatečná. Byl však posouzen vliv haplotypů pro tyto SNP. Haplotypy *GGCC*, *AGCC* a *GGCT* již se statistickou průkazností vykazaly navýšení nejen pro mléčnou užitkovost, ale též pro obsah mléčného tuku v porovnání s haplotypem *AGCT* (Lü a kol. 2011).

2.2.3 Gen pro transkripční faktor *STAT5A* (*STAT5A*)

STAT (signal transducers and activators of transcription) jsou rodinou signálních proteinů, které po aktivaci cytokinových receptorů iniciují transkripci v jádru buňky (He a kol. 2012). *STAT5* mají mimo jiné také vliv na vývoj mléčné žlázy. Během laktace dochází ke zvýšení exprese genu kódující *STAT5* proteiny. Z hlediska sekrece mléka je podstatný vliv těchto proteinů zejména v návaznosti na působení prolaktinu (Bionaz a Looor 2011). Uplatňují se mimo jiné během buněčného růstu a diferenciací interakcí s růstovým hormonem (GH). Geny *STAT5A* a *STAT5B* se nachází ve vzájemné blízkosti na 19. chromozomu v lokusu *q17*. V mléčné žláze je primárně

exprimován protein STAT5A, který je tvořen 794 aminokyselinami. Délka genu *STAT5A* činí 15 947 bp a samotný gen obsahuje 19 exonů (He a kol. 2012, Żukiewicz a kol. 2012). V 8. exonu byl lokalizován SNP12195 s alelami *G* a *C*. Alela *G* v tomto polymorfismu byla asociována s nižším obsahem mléčného tuku a proteinu. Další polymorfismus SNP14217 byl detekován v sekvenci 9. intronu s alelami *A* a *G*. Khatib a kol. (2008) pro tento polymorfismus neprokázali průkazný vliv na užitkové vlastnosti spojené s mléčnou produkcí (Khatib a kol. 2008), na druhé straně He a kol. (2012) prokázali vliv genotypů *AG* a *GG* na vyšší koncentraci mléčných proteinů (He a kol. 2012). V 9. intronu se nachází další polymorfismus g.9501G>A. Alela *A* je spojována s vyšším podílem mléčného tuku v mléce, avšak zároveň s vyšším podílem SFA v neprospěch UFA (Schennink a kol. 2009). Další polymorfismus se nachází v lokusu 17266. Genotypy *TT* a *CT* se podílely na vyšší mléčné užitkovosti v porovnání s genotypem *CC*. Oproti genotypu *TT* genotypy *CC* a *CT* vykazovaly vyšší podíl tuku v mléce (He a kol. 2012).

2.2.4 Gen pro Acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferázu 1 (DGAT1)

Acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferáza 1 je enzym endoplazmatického retikula, který se zásadně uplatňuje v mnoha tkáních, neboť utilizací diacylglycerolu a acetylkoenzymu A katalyzuje poslední krok v syntéze lipidů (Mohammed a kol. 2015). Studie potvrdily stěžejní roli tohoto enzymu v syntéze triacylglycerolů (Grisart a kol. 2002, Lu a kol. 2013). Knockout genu *DGAT1*, který podmiňuje expresi tohoto proteinu, vedl u myši dokonce k celkové inhibici laktace (Grisart a kol. 2004).

Gen *DGAT1* leží poblíž centromery 14. chromozomu. Sestává ze 17. exonů a jeho celková délka činí 14 117 bp. Na 8. exonu se nachází významný polymorfismus označovaný jako K232A, který umožňuje existenci 2 izoforem proteinu s rozdílem na 232. pozici polypeptidu. Změna v sekvenci proteinu vychází z rozdílu ve dvojici nukleotidů nacházejících se na 10 433. a 10 434. pozici sekvence genu. Sekvence *GC* vede k přítomnosti lysinu a sekvence *AA* zapříčiní inkorporaci alaninu (Mohammed a kol. 2015, Akyüz a kol. 2015). Pro polymorfismus K232A byla zjištěna až 50% účast na celkovém genetickém založení pro obsah mléčného tuku (Grisart a kol. 2002, Carvajal a kol. 2016). Pro alelu *K* byl prokázán navyšující vliv na množství a obsah tuku a proteinu v mléce. Tento efekt je ovšem vyvažován vyšším podílem SFA. Alela

A naopak vykazuje nižší zastoupení SFA, zejména kyselin kaprinové, laurové, myristové a palmitové ve prospěch UFA. Další přínos vykazuje alela *A* navýšením kyseliny olejové a CLA (Houaga a kol. 2018, Lu a kol. 2015, Schennink a kol. 2007, Schennink a kol. 2008). Vysvětlením navyšujícího účinku alely *K* na množství a podíl mléčného tuku může být prokázána vyšší rychlost syntézy triacylglycerolu pro tuto alelu (Grisart a kol. 2004, Schennink a kol. 2007). Díky všem těmto aspektům se stal gen *DGATI* velmi významným kandidátním genem pro užitkové vlastnosti spjaté s mléčnou produkcí (Grisart a kol. 2002, Akyüz a kol. 2015).

2.2.5 *Gen pro stearoyl-CoA desaturázu 1 (SCD1)*

Steroyl-CoA desaturáza 1 je enzymem, jenž je součástí endoplazmatického retikula (Moioli a kol. 2007). Tento enzym katalyzuje tzv. desaturaci, kterou se rozumí vytvoření dvojné vazby mezi 9. a 10. uhlíkem řetězce nasycené mastné kyseliny, která je touto reakcí převedena na mononenasyčenou mastnou kyselinu (Campbell a kol. 2001, Moioli a kol. 2007). Desaturace je ze zdravotního hlediska podstatnou modifikací, zejména pak v případě kyselin myristové, palmitové, stearové (C18:0) a vakcenové, které mohou být konvertovány na kyseliny myristolejovou (C14:1), palmitolejovou (C16:1n-7), kyselinu olejovou a CLA (Mele a kol. 2007). Stearoyl-CoA desaturáza 1 tak ovlivňuje složení triacylglycerolů, fosfolipidů a dalších lipidických složek (Kulig a kol. 2013).

Exprese stearoyl-CoA desaturázy 1 je podmíněna genem *SCD1*. Tento gen se nachází na 26. chromozomu (BTA26). Délka otevřeného čtecího rámce pro tento gen činí 1080 bp. Samotný enzym pak sestává z 359 aminokyselin (Mele a kol. 2007). Významný polymorfismus g.10329C>T, známý též jako A293V, se nachází uvnitř sekvence 5. exonu. Nachází se zde alela *A* podmiňující expresi alaninu a alela *V* vedoucí k expresi valinu (Moioli a kol. 2007). Tento polymorfismus ovlivňuje míru katalytické činnosti enzymu (Schennink a kol. 2008). Exprese alaninu je spojována s vyšším obsahem UFA a syntézou CLA. Gen *SCD1* tak má ze zdravotního hlediska potenciál zvýšit kvalitu mléka (Schennink a kol. 2008). Genotyp *AA* vede k vyššímu podílu MUFA a kyseliny olejové a tedy přispívá k vyšší kvalitě mléka v porovnání s genotypem *VV*. Zároveň vykazuje zlepšující efekt na syntézu CLA (Mele a kol. 2007, Kala a kol. 2016). Pro variantu *A* byl prokázán vyšší podíl pro obsah mastných kyselin C10:1, C12:1, C14:1, kyselin stearové a vakcenové současně s nižším podílem mastných kyselin kaprinové, laurové, myristové, palmitolejové a také CLA

(Schennink a kol. 2008). Gen *SCD1* leží v blízkosti QTL asociovaného s obsahem mléčného tuku v mléce. V sekvenci 5. exonu se nachází další polymorfismus g.10153G>A. Homozygotní genotyp *GG* pro tento polymorfismus byl asociován s vyššími hodnotami pro obsah mléčného tuku a proteinu (Kulig a kol. 2016).

2.2.6 Gen pro syntázu mastných kyselin (*FASN*)

Syntáza mastných kyselin (*FASN*) je homodimerický enzym katalyzující syntézu nasycených mastných kyselin *de novo* využívající acetyl-CoA a malonyl-CoA jako substráty za spoluúčasti NADPH (Nikotinamidadeninukleotidfosfátu). Tento krok vede k prodloužení uhlíkatého řetězce mastné kyseliny o 2 uhlíky, která je cyklickým opakováním této reakce elongována (Matsumoto a kol. 2012). V mléčné žláze umožňuje *FASN* syntézu nasycených mastných kyselin o délce 4 - 16 uhlíků (C4:0-C16:0). V tukové tkáni převládá syntéza kyseliny myristové a kyseliny palmitové (Morris a kol. 2007). Syntáza mastných kyselin plní svoji úlohu v cytosolu (Roy a kol. 2006).

V genu *FASN*, který syntázu mastných kyselin kóduje, bylo nalezeno několik SNP. Jedním z nich je polymorfismus g.763G>C nacházející se v 1. exonu, který však nepodléhá translaci. Přesto byl prokázán zlepšující vliv alely *C* na množství mléčného tuku. Další nalezený polymorfismus g.16009A>G (též Thr1953Ala) se nalézá v sekvenci 34. exonu. Jedná se o A/G substituci vedoucí k expresi alaninu, či v případě alely *G* k expresi threoninu. Tyto aminokyseliny se v polypeptidovém řetězci nachází na 1953. pozici. Alela *G* byla spojena s navyšujícím účinkem na podíl mléčného tuku (Roy a kol. 2006). Další nalezený polymorfismus ve 34. exonu označovaný W1955R byl zkoumán společně s polymorfismem g.16009A>G (Thr1953Ala). Pro tyto SNP byla zjištěna genová vazba a dále též prokázán navyšující účinek diplotypu AR/AR na množství mléčného tuku a též kyseliny myristové v porovnání s diplotypem TW/AR. Tento efekt je vysvětlován vlivem těchto SNP v translatovaném proteinu. Tato oblast totiž odpovídá úseku β -ketoacyl reduktázy, jenž je pro funkci syntázy mastných kyselin stěžejní (Matsumoto a kol. 2012). Asociační studií byly dále odhaleny polymorfismy g.15531C>A a g.15603G>A jejichž alely mají v mléčném tuku statisticky prokazatelně navyšovat obsah kyseliny myristové. V tukové tkáni však tyto alely obsah kyseliny myristové naopak snižují (Morris a kol. 2007). Kromě obsahu kyseliny myristové ovlivňují tyto SNP i obsah dalších mastných kyselin v mléce. Jedná

se o kyselinu kapronovou kaprylovou (C8:0), kaprinovou a laurovou (Morris a kol. 2007).

Obecně pro syntézu mastných kyselin platí, že mastné kyseliny s krátkým a středně dlouhým řetězcem vykazují střední až vyšší míru heritability oproti nenasyceným mastným kyselinám. Zároveň heritabilita nasycených mastných kyselin je vyšší v porovnání s nenasycenými mastnými kyselinami (Bastin a kol. 2011, Bouwman a kol. 2011). Je tomu tak právě z důvodu *de novo* syntézy nasycených mastných kyselin o délce uhlíkatého řetězce C4:0-C14:0. Syntéza kyseliny palmitové (C16:0) se již v mléčné žláze podílí na složení mléka zhruba z 50 %. Mastné kyseliny s delším řetězcem a zbylý podíl kyseliny palmitové pochází z krmné dávky případně tukových zásob (Li a kol. 2014a, Hanuš a kol. 2018).

2.2.7 Další geny související s mléčnou užitkovostí

Gen pro OLR1 (oxidized low-density lipoprotein receptor)

ORL1 (oxidized low-density lipoprotein receptor 1) se podílí na transportu mastných kyselin a dále se váže na lipoproteiny o nízké hustotě (LDL), jež odbourává. Vysoká míra exprese genu *ORL1* byla prokázána v aortické tkáni. V oblasti 3'UTR tohoto genu byl nalezen SNP g.8232C>A pro který byl prokázán vliv na výtěžek mléčného tuku a jeho celkový podíl mléce. Zároveň byl prokázán vliv na podíl mastných kyselin stearové, olejové a CLA, které jsou do mléčné žlázy transportovány krevním oběhem. Pro genotyp *CC* byla stanovena vyšší míra genové exprese (Schennink a kol. 2009).

Gen pro SLC27A (solute carrier family 27 A)

Mastné kyseliny s dlouhým uhlíkatým řetězcem vstupují do epiteliálních buněk mléčné žlázy s pomocí transportních proteinů, jenž se souhrnně označují SLC27 (solute carrier family 27) a jsou exprimovány v epiteliálních buňkách. Uvnitř buňky dochází k esterifikaci mastných kyselin na CoA jež se dále váží na CoA binding proteiny nebo dochází k jejich navázání na FABP proteiny (Nafikov a kol. 2013). Expresse SLC27A6 je známá zejména pro srdeční sval. Expresse izoforem tohoto proteinu byla však prokázána i pro mléčnou žlázu. Míra genové exprese pro většinu z těchto izoforem dosahuje maxima průměrně 15 dní po porodu a k jejímu poklesu dochází pozvolna v průběhu laktace (Bionaz a Looor 2008). Pro SLC27A6 byl prokázán vliv na zastoupení SFA, UFA i MUFA. Též byl prokázán vliv tohoto genu na podíl kyseliny laurové v mléce

v průběhu prvních 3 měsíců laktace, tedy během záporné energetické bilance. Haplotyp H3 je spojován s nižší hladinou SFA a vyšším obsahem UFA. Detekci haplotypu H3 lze prokázat identifikací SNP g.15740A (Nafikov a kol. 2013).

FABP (fatty acid binding proteins)

FABP (fatty acid binding proteins) jsou rodinou malých proteinů o velikosti 14-15 kDa nacházejících se v cytoplazmě. Tyto proteiny umožňují rychlý vnitrobuněčný transport mastných kyselin s dlouhým řetězcem (Liang a kol. 2014, Blecha a kol. 2015). Primární funkcí FABP3 je transport mastných kyselin pro účel β -oxidace (Nafikov a kol. 2013). Protein FABP3 je exprimován v mléčné žláze během laktace. FABP se nachází ve tkáních s vysokou úrovní metabolismu mastných kyselin, jako jsou srdeční sval, játra, tuková tkáň a kosterní svalstvo a mléčná žláza (Kulig a kol. 2014., Blecha a kol. 2015). Během laktace se v buňkách mléčné žlázy uplatňují především FABP3 a FABP4 proteiny (Nafikov a kol. 2013). Gen *FABP3* se nachází na 2. chromozomu. Tento gen je spojován s QTL mající vliv na výtěžek mléčného tuku a bílkovin (Kulig a kol. 2014). V tomto genu byl identifikován SNP s alelami *A* a *G*. Mléko asociované s homozygotním genotypem *AA* vykazovalo vyšší obsah tuku a proteinů v mléce oproti genotypům *AA* a *GG* (Kulig a kol. 2010). FABP4 je exprimován v tukové tkáni a účastní se metabolismu lipidů (Blecha a kol. 2015). Pro haplotyp H3 byl prokázán snižující účinek na zastoupení SFA a zároveň navyšující účinek na UFA. Díky vazebné nerovnováze lze přítomnost celého haplotypu H3 prokázat detekcí polymorfismu g.3691G>A (Nafikov a kol. 2013).

Gen pro SREBF1

SREBP (sterol regulatory element binding transcription factor) jsou rodinou transkripčních faktorů ovlivňující expresi celé řady genů spjatých se syntézou mléčného tuku (Rudolph a kol. 2010, Nafikov a kol. 2013b). *SREBF1* je gen kódující transkripční faktor SREBP1. Tento transkripční faktor podmiňuje expresi genů jako je acetyl-CoA karboxyláza, FASN, elongáza mastných kyselin 6 (ELOVL 6) a SCD1. (Nafikov a kol.2013b). SREBP jsou nejprve syntetizovány jako proteiny o velikosti přibližně 125 kDa a délce 1150 aminokyselin. V této podobě setrvávají jako přechodná součást membrány endoplazmatického retikula. Mechanismus působení těchto proteinů spočívá v jejich následném transportu do Golgiho aparátu a specifickém štěpení proteolytickými enzymy. Výsledkem této modifikace jsou aktivní SREBP proteiny, jež jsou dále

transportovány do jádra kde iniciují transkripci (Ma a Corl 2012, Li a kol. 2014b). Gen *SREBF1* podléhá alternativnímu sestřihu a sekvence výsledného primárního transkriptu se liší 1. exonem. Jsou tak známy 2 izoformy tohoto proteinu s názvy SREBP-1a a SREBP-1c (Ma a Corl 2012). Byly porovnávány haplotypy pro SNP v tomto genu v pořadí g.8729C>T, g.8837A>G, g.11598C>G, g.13495T>C (také L852P) a g.13801T>C. Polymorfismus g.13495T>C umožňuje substituci leucinu za prolin na 852. pozici v aminokyselinovém řetězci. Pro haplotyp H1 (kombinace alel *TGCTC*) byl prokázán snížený podíl kyselin laurové a myristové v mléce v porovnání s haplotypem H3 (kombinace alel *CACCT*). V porovnání s haplotypem H2 (kombinace alel *CGGCC*) již byl prokazatelný pouze nižší podíl kyseliny laurové. Nicméně příznivý efekt haplotypu H1 na složení mléčného tuku je na druhé straně vyvažován jeho negativní korelací s nižší výtěžností mléka (Nafikov a kol. 2013b). Vliv *SREBF1* jako transkripčního faktoru pro geny spjaté s geny podmiňující vlastnosti mléčného tuku dokládá jeho vliv na obsah kyselin laurové a myristové, jejichž zdrojem je *de novo* syntéza (Nafikov a kol. 2013).

PPARGC1A (peroxysome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1)

PPARGC1A (peroxysome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1) je kandidátním genem pro obsah mléčného tuku. Ovlivňuje procesy glukoneogeneze, syntézy mléčného tuku a homeostáze. Významnou roli hraje v játrech, svalch, tukové tkáni a též ve tkáni mléčné žlázy. Gen *PPARGC1A* se nachází na 6. chromozomu, skládá se ze 13 exonů a jeho celková délka činí 6 261 bp. 5'UTR řetězec má délku 90 bp, délka samotné kódující části genu 2391 bp a zbytek genu tvoří polyadenylační signál se 3'UTR koncem řetězce. Samotný protein je tvořen 797 aminokyselinami. V sekvenci tohoto genu bylo nalezeno několik SNP. Významný polymorfismus g.1892 T>C leží v oblasti 9. intronu. Homozygotní kombinace *TT* je asociována s vyšším obsahem mléčného tuku a proteinu oproti homozygotům *CC* a heterozygotům (Weikard a kol. 2005, Alim a kol. 2012a). Druhý SNP g.3359A>C se nachází ve 3'UTR oblasti. Alela *C* vykazovala v homozygotní sestavě lepší výsledky, ovšem statisticky neprůkazně. Prokázán byl však navýšující vliv alely *A* na obsah mléčných proteinů (Khatib a kol. 2007).

Tab. 2: Vybrané polymorfismy s vlivem na parametry mléčné užitkovosti

Název genu (proteinu)	Polymorfismus	Vliv na užitkové znaky	Literární zdroj
<i>PRL</i> (prolaktin)	-402A>G	mléčná užitkovost	Lü a kol. 2010
		% tuku	Lü a kol. 2010
	g.8398G>A	mléčná užitkovost	Brym a kol. 2005
		% tuku	
		% C10:0, C12:1	Schennink a kol. 2009
	g.402A>G	mléčná užitkovost	Lü a kol. 2010
% tuku			
<i>PRLR</i> (prolaktinový receptor)	g.9206G>A	mléčná užitkovost	Lü a kol. 2011
<i>STAT5A</i>	g.12195G>C	% tuku, % proteinu	Khatib a kol. 2008
	g.14217A>G	% proteinu	He a kol. 2012
	g.9501G>A	% tuku	Schennink a kol. 2009
		% SFA	
	17266	mléčná užitkovost	He a kol. 2012
% tuku			
<i>DGATI</i> (acylCoA:diacylglycerol acyltransferáza 1)	10433-10434	% tuku, % proteinu, %SFA	Schennink a kol. 2008
		% C18:1, % CLA	
<i>SCDI</i> (stearoyl-CoA desaturáza 1)	g.10329C>T	C10:0, 12:0, C14:0, C18:1 <i>trans</i> -11	Moioli a kol. 2007
			Schennink a kol. 2008
<i>FASN</i> (syntáza mastných kyselin)	g.10153G>A	% tuku, % proteinu	Kulig a kol. 2016
	g.763G>C	% tuku	Roy a kol. 2006
<i>ORLI</i> (oxidized low-density lipoprotein receptor 1)	g.16009A>G	% tuku	Roy a kol. 2006
	g.8232C>A	% tuku, C18:0, C18:1, CLA	Schennink a kol. 2009
<i>PPARGC1A</i> (peroxysome proliferator-activated receptor- γ)	g.1892 T>C	% tuku	Weikard a kol. 2005
	g.3359A>C	% proteinu	Khatib a kol. 2008

Následující pasáž **Materiál a metody** o rozsahu 4 stran je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

Následující pasáž **Výsledky a diskuze** o rozsahu 19 stran je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

Následující pasáž **Závěr** o rozsahu 1 strany je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

3 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. **Alim M. A., Fan Y., Xie Y., Wu X., Sun D., Zhang Y., Zhang S., Zhang Y., Zhang Q., Liu L.** (2012a) Single nucleotide polymorphism (SNP) in *PPARGC1A* gene associates milk production traits in chinese holstein cattle. *Pakistan Veterinary Journal*, 32: 4, 609 - 612.
2. **Alim M. A., Fan Y. P., Wu X. P., Xie Y., Zhang Y., Zhang S. L., Sun D. X., Zhang Y., Zhang Q, Liu L., Guo G.** (2012b) Genetic effects of stearoyl-coenzyme A desaturase (SCD) polymorphism on milk production traits in the chinese dairy population. *Molecular Biology Reports*, 39: 8733 - 8740.
3. **Akyüz B., Ağaoğlu Ö. K., Akçay A., Ağaoğlu A. R.** (2015) Effects of *DGATI* and *GH* polymorphism on milk yield in holstein cows reared in turkey. *Slovenian Veterinary Research*, 52: 4, 185 - 91.
4. **Alfonso E., Rojas R., Herrera J. G., Ortega M. E., Lemus C., Cortez C., Ruiz J., Pinto R., Gómez H.** (2012) Polymorphism of the prolactin gene (PRL) and its relationship with milk production in American Swiss cattle. *African Journal of Biotechnology*, 11: 29, 11 - 29.
5. **Atawodi S. E., Atawodi J.C. Dzikwi A.A.** (2011) Polymerase chain reaction: theory, practise and application: A review. *Sahel medical journal*, 13: 2, 54 - 63.
6. **Bastin C., Gengler N., Soyeurt H.** (2011) Phenotypic and genetic variability of production traits and milk fatty acid contents across days in milk for Walloon Holstein first-parity cows. *Journal of Dairy Science*, 94: 4152 - 4163.
7. **Bionaz M., Loor J.** (2008) ACSL1, AGPAT6, FABP3, LPIN1, and SLC27A6 Are the most abundant isoforms in bovine mammary tissue and their expression is affected by stage of lactation. *Journal of Nutrition*, 138: 1019 - 1024.
8. **Bionaz M., Loor J.** (2011) Gene networks driving bovine mammary protein synthesis during the lactation cycle. *Bioinformatics and Biology Insights*, 5: 83 - 98.

9. **Blecha I. M. Z., Siqueira F., Ferreira A. B. R., Feijó G. L. D., Torres Junior R. A. A., Medeiros S. R., Sousa I. I.** (2015) Identifications and evaluation of polymorphisms in *FABP3* and *FABP4* in beef cattle. 14: 4, 16 353 - 16 363.
10. **Bouwman A. C., Bovenhuis H., Visker M. H. P. W, van Arendonk A. M.** (2011) Genome-wide association of milk fatty acids in dutch dairy cattle. *BMC Genomics*, 12: 43, 1 - 12.
11. **Brym P., Kamiński S., Wójcik E.** (2005) Nucleotide sequence polymorphism within exon 4 of the bovine prolactin gene and its associations with milk performance traits. *Journal of applied genetics*, 45: 2, 179 - 185.
12. **Campbell E. M., Gallagher D.S., Davis S. K., Taylor J. F., Smith S. B.** (2001) Rapid communication: mapping of bovine steroyl-coenzyme A desaturase (SCD) gene to BTA 261. *Journal of animal science*, 79: 1954 - 1955.
13. **Carvajal A. M., Dezamour J. M., Subiabre I, Kerr B., Morales R. Ungerfeld E. M.** (2016) Milk fatty acid profile is modulated by *DGAT1* and *SCD1* genotypes in dairy cattle on pasture and strategic supplementation. *Genetics and molecular research*, 15: 2, 1 - 12.
14. **Garibyan L., Avashia N.** (2013) Research techniques made simple: polymerase chain reaction (PCR). *Journal of Investigative Dermatology*, 133: 3, 1 - 8.
15. **German J. B., Dillard C. J.** (2006) Composition, structure and absorption of milk lipids: a source of energy, fat-soluble nutrients and bioactive molecules. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46: 1, 57 - 92.
16. **Grisart B., Coppieters W., Farnir F., Karim L., Ford Ch., Berzi P., Cambisano N., Mni M., Reid S., Simon P., Spelman R., Georges M., Snell R.** (2002) Positional Candidate Cloning of a QTL in Dairy Cattle: Identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 Gene with major effect on milk yield and composition. *Cold spring harbor laboratory press*, 12: 222 - 231.

17. **Grisart B., Farnir F., Karim L., Cambisano N., Kim J., Kvasz A., Mni M., Simon P., Frère J. M., Coppieters W., Georges M.** (2004) Genetic and functional confirmation of the causality of the *DGATI* K232A quantitative trait nucleotide in affecting milk yield and composition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101: 8, 2398 - 2403.
18. **Hanuš O., Samková E., Křížová L., Hasoňová L., Kala R.** (2018) Role of fatty acids in milk fat and the influence of selected factors on their variability – A review. *Molecules*, 23: 1 - 32.
19. **He K., Chu M. X., Qiao L., He J. N., Wang P. Q., Feng T., Di R., Cao G. I., Fang I., An Y. F.** (2012) Polymorphisms of *STAT5A* gene and their association with milk production traits in holstein cows. *Molecular biology reports*, 39: 2901 - 2907.
20. **Houaga I., Muigai A. W., Ng'ang'a F., Ibeagha-Awemu E., Kyallo M., Youssao I. A. K., Stormeo F.** (2018) Milk fatty acid variability and association with polymorphisms in *SCD1* and *DGATI* genes in White Fulani and Borgou cattle breeds. *Molecular Biology Reports*, 45: 1849 - 1862.
21. **Jensen R. G.** (2002) *Invited Review: The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000.* *Journal of Dairy Science*, 85: 295 - 350.
22. **Kala R., Samková E., Čítek J.** (2016) Selected candidate genes affecting milk fatty acids. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 19: 31 - 33.
23. **Kalač P., Samková E.** (2010) The effect of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: a review. *Czech Journal of Animal Science*, 50: 12, 521 - 537.
24. **Khatib H., Zaitoun I., Wiebelhaus-Finger J., Chang Y. M., Rosa G. J. M.** (2007) The Association of Bovine *PPARGCIA* and *OPN* Genes with milk composition in two independent holstein cattle populations. *Journal of dairy science*, 90: 2966 - 2970.

25. **Komisarek J., Dorinek Z.** (2009) Effect of *ABCG2*, *PPARGC1A*, *OLRI* and *SCD1* gene polymorphism on estimated breeding values for functional and production traits in polish holstein-friesian bulls. *Journal of applied genetics*, 50: 2, 125 - 132.
26. **Kulig H., Kowalewska-Łuczak I., Kmiec M., Wojdak-Maksymiec K.** (2010) ANXA9, SLC27A3, FABP3 and FABP4 single nucleotide polymorphisms in relation to milk production traits in jersey cows. *Czech Journal of Animal Science*, 55: 12, 521 - 537.
27. **Kulig H., Kowalewska-Łuczak I., Zukowski K., Kunicka M.** (2013) *SCD1* SNP in relation to breeding value of milk production traits in polish holstein-friesian cows. *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica*, 12: 1, 41 - 48.
28. **Kulig H., Żukowski K., Kowalenska-Łuczak, Łakomy P.** (2016) *SCD1* polymorphism and breeding value for milk production traits in cows. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 22: 1, 131 - 134.
29. **Li C. Sun D., Zhang S., Wang S., Wu X., Zhang Q., Liu L., Yanhua L., Qiao L.** (2014a) Genome wide association study identifies 20 novel promising genes associated with milk fatty acid traits in chinese holstein. *Plos ONE*, 9: 5, 1 - 21.
30. **Li N., Zhao F., Wei Ch. Liang M., Zhang N., Wang Ch., Li Q. Z., Gao X. J.** (2014b) Function of SREBP1 in the milk fat synthesis of dairy cow mammary epithelial cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 15: 16 998 - 17 017.
31. **Liu Z., Ezernieks V., Wang J., Arachchillage N. W., Garner J. B., Wales W. J., Cocks B. G. Rochfort S.** (2017) Heat stress in dairy cattle alters lipid composition of milk. *Scientific reports*, 7: 961, 1 - 10.
32. **Liang M., Hou X., Qu B., Zhang N., Li N., Cui Y., Li Q., Gao X.** (2014) Functional analysis of FABP3 in the milk fat synthesis signaling pathway of dairy cow mammary epithelial cells. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 50: 865 - 873.

33. **Lü A., Hu X. Chen H., Jiang J., Zhang Ch., Xu H., Gao X.** (2010) Single nucleotide polymorphisms in bovine *PRL* gene and their associations with milk productin traits in Chinese Holsteins. *Molecular biology reports*, 37: 547 - 551.
34. **Lü A., Hu X. Chen H., Dong Y. Zhang Y., Wang X.** (2011) Novel SNPs of the Bovine *PRLR* Gene associated with milk production traits. *Biochemical Genetics*. 49: 177 - 189.
35. **Lu Ch., Yang R., Shen B., Osman H., Zhang Y., Yan S., Zhang L., Zhan Z.** (2013) RNA interference-mediated knockdown of *DGAT1* decreases triglyceride content of bovine mammary epithelial cell line. *Gene Expression*, 15: 199 - 206.
36. **Lu J., Boeren S., Hooijdonk T., Vervoort J., Hettinga K.** (2015) Effect of the *DGAT1* K232A genotype of dairy cows on the milk metabolome and proteome. *Journal of Dairy Science*, 98: 3460 - 3469.
37. **Lv Y., Zhang S., Guan W., Chen F., Zhang Y. Chen J., Yang L.** (2018) Metabolic transition of milk triacylglycerol synthesis in response to varying levels of palmitate in porcine mammary epithelial cells. *Genes & Nutrition*. 13: 18, 1 - 12.
38. **Ma L., Corl B. A.** (2012) Transcriptional regulation of lipid synthesis in bovine mammary epithelial cells by sterol regulatory element binding protein-1. *Journal of Dairy Science*, 95: 3743 - 3755.
39. **Månsson H. L.** (2008) Fatty acids in bovine milk fat. *Food & Nutrition Research*. 52: 10. 1 - 3.
40. **Matsumoto H., Inada S., Kobayashi E., Abe T., Hasebe H., Sazaki S., Oyama K., Mannen H.** (2011) Identification of SNPs in the *FASN* gene and their effect on fatty acid milk composition in Holstein cattle. *Livestock Science*, 144: 281 - 284.
41. **Mele M., Conte G., Castiglioni B., Chessa S., Macciotta N. P. P., Serra A., Buccioni A., Pagnacco G., Secchiari P.** (2007) Stearoyl-coenzyme a desaturase gene polymorphism and milk fatty acid composition in italian holsteins. *Journal of Dairy Science*. 90: 4458 - 4465.

42. **Mohammed S. A., Rahamtalla S. A., Ahmed S. S., Elhafiz A., Dousa B. M., Elamin K. M., Ahmed M. K. A.** (2015) *DGATI* Gene in Dairy Cattle. *Global Journal of Animal Scientific Research*, 3: 1, 191 - 198.
43. **Moioli B., Contarini G., Avalli A., Gatillo G., Orrú L., De Matteis G., Masoero G., Napatitano F.** (2007) Short Communication: Effect of Stearoyl-coenzyme A desaturase polymorphism on fatty acid composition of milk. *Journal of Dairy Science*, 90: 3553 - 3558.
44. **Morris Ch. A. Gullen N. G., Glass B. C., Hyndman D. L., Manley T. R., Hickey S. M., McEwan J. C., Pitchford W. S., Bottema C. D. K., Lee M. A. H.** (2007) Fatty acid synthase effects on bovine adipose fat and milk fat. *Mammalian Genome*, 18: 1, 64 - 74.
45. **Nafikov R. A., Schoonmaker J. P., Korn K. T., Noack K., Garrick D. J.,** (2013) Association of polymorphism in solute carrier family 27, isoform A6 (SLC27A6) and fatty acid-binding protein-3 and fatty acid-binding protein-4 (FABP3 and FABP4) with fatty acid composition of bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 96: 6007 - 6021.
46. **Nafikov R. A., Schoonmaker J. P., Korn K. T., Noack K., Garrick D. J., Koehler K. J.** (2013) Sterol regulatory element binding transcription factor 1 (SREBF1) polymorphism and milk fatty acid composition. *Journal of Dairy Science*, 96: 2605 - 2616.
47. **Panneerchelvam S. Norazmi M.N.** (2003) Forensic DNA profiling and database. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 10: 2, 20 - 26.
48. **Parodi P. W.** (2004) Milk fat in human nutrition. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 59: 1, 3 - 59.
48. **Patel J. B., Chauhan J. B.** (2017) Polymorphism of the prolactin gene and its relationship with milk production in Gir and Kankrej Cattle. *Journal of Natural Science Biology and Medicine*, 8: 2, 167 - 170.
49. **Pérez E. V. B., Garnsworthy** (2013) *Trans* fatty acids and their role in the milk of dairy cows. *Ciencia e Investigación Agraria*, 40: 3, 449 - 473.

50. **Pilarczyk R., Wójcik J., Sablik P., Czerniak P.** (2015) Fatty acid profile and health lipid indices in the raw milk of Simmental and Holstein-Friesian cows from an organic farm. *South African Journal of Animal Science*, 45: 1, 30 - 38.
51. **Rudolph M. C., Monks J., Burns V., Phistry M., Marians R., Foote M. R., Bauman D. E., Anderson S. M., Neville M. C.** (2010) Sterol regulatory element binding protein and dietary lipid regulation of fatty acid synthesis in the mammary epithelium. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 299: 6, 918 - 927.
52. **Samková E.** (2012a) Mléko : produkce a kvalita: Milk: production and quality : vědecká monografie. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, České Budějovice ISBN 978-80-7394-383-7.
53. **Samková E., Špička J., Pešek M., Pelikánová T., Hanuš O.** (2012b) Animal factors affecting fatty acid composition of cow milk fat: A review. *South African Journal of Animal Science*, 42: 2. 83 - 100.
54. **Schennink A., Stoop W. M., Visker M. H. P. W., Heck J. M. L., Bovenhuis H., van der Poel J. J., van Valenberg H. J. F., Arendonk J. A. M.** (2007) DGAT1 underlies large genetic variation in milk-fat composition of dairy cows. *Animal Genetics*, 38: 467 - 473.
55. **Schennink A., Heck J. M. L., Bovenhuis H., Visker M. H. P. W., van Valenberg H. J. F., Arendonk J. A. M.** (2008) Milk fatty acid unsaturation: genetic parameters and effects of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) and acyl CoA: Diacylglycerol Acyltransferase 1 (DGAT1). *Journal of Dairy Science*, 91: 2135 - 2143.
56. **Schennink A., Bovenhuis H., Léon-Kloosterziel K. M., van Arendonk J.A.M. M. H.** (2009) Effect of polymorphism in the FASN, OLR1, PPARGC1A, PRL and STAT5A genes on bovine milk-fat composition. *Animal Genetics*, 40: 909 - 916.
57. **Tagang A., Ishaku K. P., Abdullahi** (2010) Volatile fatty acids production in ruminants and the role of monocarboxylate transporters: A review. *African Journal of Biotechnology*, 9: 38, 6229 - 6232.

58. **Velíšek, Hajšlová** (2009) *Chemie potravin 1.*, Tábor. 3. vydání ISBN 978-80-86659-15-2.
59. **Wasielewska M., Zygmunt B.** (2015) Production, transformation and determination of volatile fatty acids in farm animals and in the environment. *International Proceedings of Chemical, Biological and Environmental Engineering*, 84: 108 - 112.
60. **Weikard R., Kühn, Goldammer T., Freyer G., Schwerin M.** (2005) The bovine *PPARGCIA* gene: molecular characterization and association of an SNP with variation of milk fat synthesis. *Physiological Genomics*, 21: 1 - 13.
61. **Yang W. Kang X., Yang Q., Lin Y. Fang M.** (2013) Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. *Journal of animal science and biotechnology*, 4: 2, 2 - 6.
62. **Żukiewicz, A., Grzesiak, W., Szatkowska, I., Błaszczyk, P. and Dybus, A.** (2012) Genetic factors of milk yield in dairy cattle – advances in the quest for universal markers. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 67: 2, 82 - 91.