



MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ

30366/2013-MZE-14323



000186190183

**Ministerstvo zemědělství ČR**

*Těšnov 17, Praha 1, 117 05*

**v y d á v á**

## **OSVĚDČENÍ**

č. 30366/2013-MZE-14323

o uznání uplatněné certifikované metodiky  
v souladu s podmínkami „Metodiky hodnocení výsledků výzkumu a vývoje“

**Využití kandidátních genů k modifikaci profilu mastných kyselin  
v tukové tkáni českého strakatého skotu**

Autoři: Ing. Luděk Bartoň, Ph.D., Ing. Daniel Bureš, Ph.D., Ing. Tomáš Kott, Ph.D.

Místo vydání metodiky: Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.  
Přátelství 815, 104 00 Praha Uhřetěves

Vypracované v rámci výzkumného záměru NAZV QH 81228.

V Praze dne 22. května 2013

  
Ing. Jindřich Fialka

ředitel odboru potravinářské výroby a legislativy



## CERTIFIKOVANÁ METODIKA

### Využití kandidátních genů k modifikaci profilu mastných kyselin v tukové tkáni českého strakatého skotu

#### Autoři

Ing. Luděk Bartoň, Ph.D.

Ing. Daniel Bureš, Ph.D.

Ing. Tomáš Kott, Ph.D.

#### Oponenti

**prof. Ing. Jan Frelich, CSc.**

Zemědělská fakulta Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích

**Ing. Pavel Trčka Ph.D.**

Odbor potravinářské výroby a legislativy

Ministerstvo zemědělství České republiky

Metodika byla vypracována v rámci řešení projektu NAZV QH 81228.

ISBN 978-80-7403-110-6

## Obsah

<b>I. Cíl metodiky.....</b>	<b>4</b>
<b>II. Vlastní popis metodiky .....</b>	<b>4</b>
II.1. Úvod .....	4
II.2. Literární přehled .....	4
II. 2.1. Výskyt mastných kyselin v tukové tkáni skotu.....	4
II. 2.2. Změny složení MK v mase prostřednictvím výživy.....	7
II. 2.3. Změny složení MK v mase prostřednictvím genetických faktorů .....	7
II.3. Experimentální část.....	8
II. 3.1. Materiál a metodika .....	8
II. 3.2. Výsledky a diskuse .....	11
II.4. Závěr.....	17
<b>III. Srovnání novosti postupů a zdůvodnění.....</b>	<b>17</b>
<b>IV. Popis uplatnění certifikované metody .....</b>	<b>17</b>
<b>V. Ekonomické aspekty.....</b>	<b>17</b>
<b>VI. Seznam použité související literatury.....</b>	<b>18</b>
<b>VII. Seznam publikací, které předcházely metodice .....</b>	<b>19</b>

## I. Cíl metodiky

Cílem předložené metodiky bylo ověřit existenci polymorfismů vybraných kandidátních lipogenních genů v populaci českého strakatého skotu, optimalizovat metodiku stanovení těchto polymorfismů, určit četnosti alel a genotypů, kvantifikovat vztah genotypů a fenotypového zastoupení mastných kyselin v tukové tkáni. Dalším cílem bylo formulovat možnosti využití těchto výsledků při úpravách šlechtitelského programu českého strakatého skotu s ohledem na zlepšování parametrů kvality masa.

## II. Vlastní popis metodiky

### II.1. Úvod

Český strakatý skot je nejpočetnějším plemenem chovaným na území České republiky. S počtem kusů téměř 473 tisíc tvořila v r. 2012 populace českého strakatého skotu 48,1 % celkového stavu dojných a kombinovaných plemen (včetně kříženců) (Kvapilík et al., 2012). Hlavním cílem chovu českého strakatého plemene je intenzivní, stabilní a hospodárná produkce mléka a masa vysoké kvality. Ve výhledu šlechtitelského programu plemene se dále počítá s tím, že v souladu s požadavky evropského trhu na kvalitu a zdravotní nezávadnost produktů chovu skotu bude v procesu šlechtění podstatně větší důraz kladen na účinné zlepšování kvalitativních parametrů mléka a masa (SCHČSS, 2012). Jedním z důležitých ukazatelů kvality masa, který je z velké části podmíněn geneticky, je složení mastných kyselin (MK). Existují důkazy, že některé MK mohou přispívat ke vzniku kardiovaskulárních onemocnění, jiné jsou naopak pro zdraví konzumenta prospěšné. Skladba MK navíc významně ovlivňuje senzorycké a technologické vlastnosti masa (pevnost tukové tkáně). Lze očekávat, že objasnění role genů účastnících se procesu lipogeneze povede k rozvoji testů DNA, pomocí kterých bude možné selektovat na profil MK a predikovat potenciál jednotlivých zvířat k produkci masa se specifickým složením MK v mase (Shingfield et al., 2013).

### II.2. Literární přehled

#### II. 2.1. Výskyt mastných kyselin v tukové tkáni skotu

Tuková tkáň se v těle skotu vyskytuje v podobě tuku podkožního, mezikvalového, vnitrosvalového (intramuskulárního), a vnitřního (orgánového). Její množství je značně variabilní, pro výživu člověka je však nejdůležitější tuk intramuskulární, který se nachází ve svalovině ve formě tukových buněk mezi svalovými vlákny a snopci (tzv. neutrální lipidy tvořící mramorování masa) anebo jako strukturální fosfolipidy (polární lipidy) a cholesterol. Podíl intramuskulárního tuku závisí na řadě faktorů (např. pohlaví, věk, plemeno, výživa, typ svalů) a nejčastěji se pohybuje v rozpětí od 1 do 10 g/100 g svalové tkáně.

Z pohledu lidské výživy jsou nejvýznamnější složkou lipidů obsažených v potravinách MK. Jedná se o vyšší monokarboxylové kyseliny, které se podle přítomnosti dvojně vazby dělí na nasycené (SFA; žádná dvojná vazba), mononenasyčené (MUFA; jedna dvojná vazba) a polynenasycené (PUFA; více dvojných vazeb). Z hlediska prostorové konfigurace existují *cis* (většina) anebo *trans* MUFA. V případě PUFA je důležitá i poloha první dvojně vazby od koncové methylové skupiny a rozlišovány jsou PUFA řady n-3 ( $\omega$ -3) a PUFA řady n-6 ( $\omega$ -6). V mase se vyskytují zejména MK se střední až dlouhou délkou uhlíkového řetězce (12 – 22 atomů uhlíku v molekule) (Wood et al., 2008). Nutričně významné MK obsažené v lipidech hovězího masa jsou uvedeny v Tabulce 1.

Tabulka 1: Nutričně významné MK obsažené v lipidech hovězího masa

Systematický název	Triviální název	Schematická zkratka	Zařazení
dodekanová	laurová	C12:0	SFA
tetradekanová	myristová	C14:0	SFA
hexadekanová	palmitová	C16:0	SFA
oktadekanová	stearová	C18:0	SFA
tetradecenová	myristolejová	C14:1 n-5	MUFA
hexadecenová	palmitolejová	C16:1 n-7	MUFA
oktadecenová	olejová	C18:1 n-9	MUFA
oktadecenová	vakcenová	C18:1 n-11 <i>trans</i>	<i>trans</i> MUFA
oktadekadienová	linolová	C18:2 n-6	PUFA n-6
eikosatetraenová	arachidonová	C20:4 n-6	PUFA n-6
oktadekatrienová	$\alpha$ -linolenová	C18:3 n-3	PUFA n-3
eikosapentaenová	EPA	C20:5 n-3	PUFA n-3
dokosapentaenová	klupanodonová	C22:5 n-3	PUFA n-3
dokosahexaenová	DHA	C22:6 n-3	PUFA n-3
oktadekadienová	konjugovaná linolová <i>cis</i> 9 <i>trans</i> 11	CLA <i>c9, t11</i>	PUFA
oktadekadienová	konjugovaná linolová <i>trans</i> 10 <i>cis</i> 12	CLA <i>t10, c12</i>	PUFA

V zastoupení MK v masu existují mezi jednotlivými druhy hospodářských zvířat poměrně výrazné rozdíly. Porovnání podílu hlavních MK vyskytujících se v hovězím, jehněčím, vepřovém a kuřecím masu a ve vejcích je uvedeno v Tabulce 2. Tuková tkáň přežvýkavců se vyznačuje vysokou koncentrací nasycených MK (SFA), zatímco podíl polynenasycených MK (PUFA) je poměrně nízký. Příčinou je proces biohydrogenace v bachoru, při kterém je značná část PUFA z krmiva pomocí bachorových mikroorganismů hydrogenována na příslušné SFA, které se posléze ukládají v tukové tkáni zvířete.

Přestože je hovězí maso významným zdrojem některých živin, zejména biologicky hodnotných bílkovin, vitaminů (hlavně skupiny B) a stopových prvků (železo, selen, zinek) (Biesalski, 2005), je jeho konzumace často kritizována z důvodu nevhodné skladby mastných kyselin. Nejvíce zastoupenými MK v tukové tkáni skotu jsou kyseliny olejová (C18:1 n-9), palmitová (C16:0) a stearová (C18:0). Právě kyseliny palmitová spolu s myristovou (C14:0) a laurovou (C12:0) a rovněž *trans* MK jsou nejčastěji zmiňovány pro svoji schopnost zvyšovat hladinu „špatného“ (LDL) cholesterolu v krvi a jsou proto spojovány s rizikem vzniku srdečně cévních onemocnění. Ta přitom dlouhodobě představují hlavní příčinu úmrtnosti v hospodářsky rozvinutých zemích (Salter, 2013). Kyselina stearová je z pohledu vlivu na koncentraci krevního cholesterolu považována za neutrální, zatímco MUFA a zejména PUFA n-3 podle některých studií hladinu LDL cholesterolu dokonce snižují (Nicklas et al., 2012). I to je důvod, proč byly v minulosti stanoveny hladiny doporučeného příjmu tuku a MK, které bývají pravidelně aktualizovány (Tabulka 3).

Tabulka 2: Hlavní MK obsažené v intramuskulárním tuku hovězího, jehněčího, vepřového a kuřecího masa a ve vejcích (g/100 MK celkem)

	Hovězí	Jehněčí	Vepřové	Kuřecí	Vejce
C4:0 - C10:0	ND <sup>a</sup>	0,3	ND	ND	ND
C12:0	ND	0,5	ND	ND	ND
C14:0	2,5	5,2	ND	ND	ND
C16:0	24,6	21,7	22,8	20,4	24,0
C18:0	15,0	17,6	12,4	6,0	8,4
<i>Trans</i> MK	3,6	8,2	0,5	0,8	1,3
C18:1 n-9	39,1	32,3	37,4	42,7	42,8
C18:2 n-6	2,8	1,8	14,8	16,6	17,2
C18:3 n-3	0,8	1,2	1,4	2,6	0,9
C20:4 n-6	0,5	0,5	1,1	0,4	ND
C20:5 n-3	0,3	0,3	0,3	ND	ND
C22:5 n-3	0,5	0,4	0,5	0,4	ND
C22:6 n-3	ND	0,1	0,3	0,4	ND

Zdroj: Woods and Fearon (2009)

<sup>a</sup> ND - nebyla detekována

Tabulka 3: Doporučená úroveň příjmu tuku celkem a mastných kyselin ve výživě člověka (Food and Agriculture Organization a World Health Organization)

Tuk/Skupina MK	Doporučený příjem (% přijaté energie)
Tuk celkem	25 – 35
Nasyčené MK (SFA)	<10
Mononenasycené MK (MUFA)	Dopočítaný rozdíl <sup>a</sup>
Polynenasycené MK (PUFA)	9 – 11
PUFA n-6	2,5 – 9
PUFA n-3	0,5 – 2
<i>Trans</i> MK	<1

Zdroj: Salter (2013)

<sup>a</sup> MUFA = tuk celkem – SFA – PUFA – *Trans* MK

## II. 2.2. Změny složení MK v mase prostřednictvím výživy

Roste podíl konzumentů, kteří se zajímají o původ, složení nebo zdravotní nezávadnost potravin. Zastoupení MK je proto věnována značná pozornost a jsou hledány způsoby, jak ho změnit. Jednou z často využívaných metod je výživa vykrmovaných zvířat. U přežvýkavců je v tomto případě limitujícím faktorem rozsah lipolýzy a biohydrogenace MK obsažených v krmivu v bachoru. S větším či menším úspěchem bývají v různých výkrmových strategiích využívána krmiva s vysokým obsahem PUFA n-3 jako např. různé druhy pastevní a konzervované píče, rostlinné oleje, semena olejnatých plodin, rybí oleje nebo produkty z mořských řas. Rovněž jsou využívány různé způsoby ochrany lipidových doplňků před biohydrogenací PUFA v bachoru přežvýkavců (Shingfield et al., 2013). Zkrmování krmiv s vysokým podílem zejména kyseliny linolenové (C18:3 n-3) lze považovat za poměrně účinný nástroj pro modifikace MK v mase hospodářských zvířat (De Henauw et al., 2007).

## II. 2.3. Změny složení MK v mase prostřednictvím genetických faktorů

I při shodných podmínkách prostředí, kdy zvířata stejného pohlaví pocházejí ze stejného produkčního systému, jsou vykrmována prostřednictvím identické krmné dávky a jsou porážena v podobném věku a porážkové hmotnosti se v zastoupení MK v tukové tkáni mezi různými plemeny skotu nebo jedinci téhož plemene vyskytují poměrně významné rozdíly. Ty mají zřejmě genetický základ a jsou odrazem rozdílů v genotypu, expresi genů a proteinů nebo aktivity enzymů, které se podílejí na syntéze, přeměně nebo transportu MK v organismu (De Smet et al., 2004). Rozdíly mezi plemeny v profilu MK byly zjištěny v řadě zahraničních studií (např. Sexten et al. (2012)), ale i v našich předchozích pracích (Bureš et al., 2006; Barton et al., 2010).

Pro jednotlivé MK nebo skupiny MK zastoupené v tukové tkáni byly u různých plemen skotu odhadnuty genetické parametry. Přehled koeficientů dědivosti převzatých z těchto studií je uveden v Tabulce 4.

Tabulka 4: Koeficienty dědivosti některých MK tukové tkáně skotu

Znak	Různá plemena (Kelly et al., 2013)	Japonské černé (Inoue et al., 2011)	Japonské černé (Nogi et al., 2011)
C14:0	0,55±0,12	0,82±0,10	0,70±0,09
C14:1 n-5	0,51±0,12	0,86±0,10	0,60±0,09
C16:0	0,43±0,11	0,65±0,09	0,65±0,09
C16:1 n-7	0,38±0,11	0,66±0,10	0,76±0,09
C18:0	0,44±0,11	0,71±0,10	0,59±0,09
C18:1 n-9	0,56±0,12	0,73±0,09	0,78±0,09
C18:2 n-6	0,06±0,07	0,34±0,08	0,58±0,58
C18:3 n-3	0,00±0,00		0,00±0,01
SFA	0,54±0,12		0,66±0,09
MUFA	0,53±0,12	0,66±0,09	0,68±0,09
PUFA	0,05±0,07		0,47±0,08

Koeficienty dědivosti dosahují středních až vyšších hodnot, zatímco genetické korelace mezi obsahem MK a složením jatečného těla jsou nízké, z čehož vyplývá, že selekce na obsah MK



v tuku u skotu a tedy na maso s modifikovaným profilem MK je v praxi možná i bez negativního dopadu na další užitkové znaky (Nogi et al., 2011).

Jednou z příčin geneticky podmíněné proměnlivosti skladby MK v tukové tkáni skotu může být výskyt polymorfismů u kandidátních genů, které kódují enzymy podílející se na fyziologických procesech spojených s absorpcí, syntézou nebo desaturací MK, nebo které jako transkripční faktory regulují expresi lipogenních genů. Tyto polymorfismy (existence více alelových variant) mohou, ale nemusí mít vliv na funkčnost genů a následně aktivitu příslušných enzymů. Aby mohly být tyto vztahy využity v rámci šlechtitelských postupů nebo produkčních systémů, je nutné prokázat relevantnost příslušných genů ve vztahu k parametrům kvality masa a důkladněji prozkoumat mechanismy jejich funkce.

## II.3. Experimentální část

### II. 3.1. Materiál a metodika

#### II. 3.1.1. Odběr vzorků

U studií, ve kterých je analyzována existence polymorfismů předem určených genů a vztah mezi genotypem a fenotypovými znaky zvířete, je velmi důležitý výběr populace, ve které se sledování provádí. Cílem naší práce bylo potvrdit existenci polymorfismů v některých lipogenních genech účastnících se procesů absorpce, syntézy nebo desaturace MK, které byly dříve zjištěny u jiných plemen a populací skotu, a určit vliv jednotlivých genotypů na profil MK ve svalovině a podkožním tuku českého strakatého skotu.

Bylo tedy nutné získat dostatečný počet vzorků pro genetické a chemické analýzy od zvířat, u kterých byly v co nejvyšší míře potlačeny negenetické vlivy, které zastoupení MK rovněž významně ovlivňují. Vzorky proto byly odebírány od býků ze stanice výkrmnosti českého strakatého skotu, kde jsou zjišťovány parametry výkrmnosti a jatečné hodnoty potomstva plemenných býků. Na základě metodiky testu se na stanici nakupuje 14-17 býčků po jednotlivých otcích ve věku do čtyř týdnů. Odchov a výkrm probíhají v identických podmínkách volného ustájení a výživy až do dosažení věku 530 dnů, kdy jsou zvířata porážena. Po porážkách byly na jatkách získávány vzorky svaloviny z *m. longissimus thoracis* (n = 634) na úrovni 8. žebra (100 - 150 g) a podkožního tuku (n = 421) z oblasti hrudí (40 - 60 g). Vzorky posloužily jako zdroj genomické DNA a zároveň u nich bylo pomocí plynové chromatografie stanoveno zastoupení jednotlivých MK (g/100 g MK celkem). Zároveň byly o těchto zvířatech shromažďovány další informace (původ, datum narození, ukazatele růstu v průběhu testu, porážková hmotnost, hmotnost jatečně upraveného těla).

#### II. 3.1.2. Detekce polymorfismů

Genetický polymorfismus – variabilita v sekvenci DNA - je příčinou velké části genetické variability organismů. Efekt účinku jednotlivých genetických variant je často velmi odlišný a v mnoha případech není znám. Nejčastěji ovlivňují polymorfní varianty expresi určitého genu nebo změnou jeho struktury ovlivňují jeho aktivitu. Pro všechny asociační studie je stanovení polymorfismu nezbytným prvním krokem.

V naší práci byl analyzován vztah mezi složením mastných kyselin intramuskulárního a podkožního tuku býků plemene české strakaté a genotypy některých lipogenních genů. Jednalo se o následující geny a polymorfismy: diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1; g.10433\_10434delinsAA), fatty acid binding protein 4 (FABP4; c.220A>G), fatty acid synthase (FASN; g.16024G>A, g.17924A>G), peroxysove proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$

(PPARGC1A; c.1790+514G>A, c.1892+19C>T), stearoyl-coenzyme A desaturase 1 (SCD1; c.878C>T), sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1; 84-bp del) a signal transducer and activator of transcription 5A (STAT5A; g.9501G>A).

První krok pro stanovení genotypu je izolace genomické DNA z biologického materiálu. My jsme použili vzorek svaloviny, který byl odebrán v průběhu porážky zvířat na jatkách. Tento postup se nám osvědčil pro vysokou kvalitu získané DNA i pro nenáročnost odběru. Pro izolaci byla použita část svaloviny, která je odebírána pro stanovení obsahu mastných kyselin a další analýzy. Odběr tak má vysokou efektivitu a nedochází k opakovanému rušení zvířete. Pro případné potřeby změny metodiky jsme ověřili i možnost izolace DNA z tvářových stěrů a krve. V obou případech byly tyto alternativní postupy použitelné. DNA byla izolována z 50 mg svaloviny metodou NucPrep® Chemistry na přístroji 6100 Nucleic Acid PrepStation (Applied Biosystems).

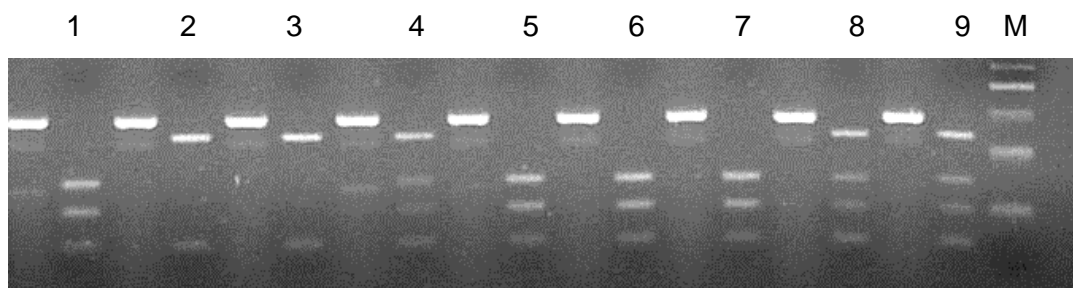
#### II. 3.1.2.1. Stanovení polymorfismu v genu SCD1 (c.878C>T)

Cílová oblast DNA byla namnožena pomocí polymerázové řetězové reakce PCR. Cílová oblast je vymezena krátkými, specifickými fragmenty DNA – primery. Tyto primery jsme převzali z literatury (Taniguchi et al., 2004) a jejich sekvence je následující: Horní primer (forward) scd-F878 ATGTATGGATACCGCCCTTATGAC a dolní (reverse) primer scd-R878 TTCTGGCACGTAACCTAATACCCTAAGC. Poté jsme optimalizovali teplotní profil PCR následovně: Úvodní denaturace 95 °C po dobu 5 minut, následovalo 35 cyklů denaturace 95 °C 20 vteřin, 60 °C anelace 30 vteřin a 72 °C elongace 30 vteřin, na závěr 72 °C finální elongace 3 minuty. PCR byla prováděna v termocykleru T-Gradient (Biometra) a reakční složení 15 µl reakční směsi bylo následující: 0,16 µM obou primerů, 20 – 80 ng DNA, 1x PPP master mix (Top Bio) a voda do objemu 15 µl.

Následným krokem bylo štěpení pomocí restriční endonukleázy - restriktázy SAT I. Tyto enzymy rozpoznávají specifickou sekvenci DNA a v případě jejího nalezení přerušují (rozštěpí) vlákno DNA. Složení štěpící reakce bylo následující: 5 µl produktu PCR, 1 µl G – pufru (Fermentas), 0,5 µl SAT I, 0,5 µl nanášecí barvy a voda do objemu 14 µl. Takto připravená směs se inkubovala přes noc při teplotě 37 °C.

Posledním krokem byla separace štěpných produktů pomocí agarózové elektroforézy. Používali jsme 2 % agar pro PCR (Top Bio), který byl barvený ethidium bromidem. Hotové gely byly foceny dokumentačním systémem (Alpha Digi Doc) s pomocí UV iluminátoru a poté hodnoceny (Obr. 1).

Obr. 1: Genotypování SCD1 – zleva nanášen produkt PCR, poté produkt štěpení



Pozice: 1, 5, 6, 7 – genotyp AA; 2, 3 – genotyp VV a pozice 4, 8, 9 – genotyp VA, M je velikostní standard.

#### II. 3.1.2.2. Stanovení polymorfismu v genu *SREBP-1* (84-bp del)

Polymorfismus *SREBP-1* (84-bp del) byl genotypován metodou PCR-AFLP, neboli alelicky specifické PCR. Pro amplifikaci byly použity primery (Hoashi et al., 2007):

INT5-F-50-CCACAACGCCATCGAGAAACGCTAC-30;

INT5-R-50-GGCCTTCCCTGACCNCCCAACTTAG-30

Podmínky PCR jsou shodné s amplifikací *SCD878*. PCR produkty jsou přímo po amplifikaci separovány na 2% agarózovém gelu barveném ethidium bromidem.

#### II. 3.1.2.3. Stanovení ostatních polymorfismů

Ostatní genotypy v genech *DGAT1* (g.10433\_10434delinsAA), *FABP4* (c.220A>G), *FASN* (g.16024G>A; g.17924A>G), *PPARGC1A* (c.1790+514G>A; c.1892+19C>T) a *STAT5A* (g.9501G>A) byly stanovovány pomocí TaqMan MGB sond metodou real-time PCR v přístroji 7500 fast realtime systém (Life technologies). Pro stanovení genotypů byla využita DNA připravená shodně jako v předchozích případech (střídání denaturace při 95 °C a anelace + elongace při 60 °C) za současného měření fluorescenčního signálu značených sond (reportérů). Podle výsledné hodnoty naměřené fluorescence byl přímo odečten genotyp. Sekvence primerů a sond je uvedena v Tabulce 5.

#### II. 3.1.3. Výpočty a statistické analýzy

Frekvence alel a genotypů a vazebná nerovnováha mezi mutacemi vyskytujícími se v rámci jednoho genu byly počítány pomocí software PowerMarker v.3.25 (Liu and Muse, 2005). K asociační analýze mezi jednotlivými genotypy a složením MK intramuskulárního a podkožního tuku bylo použito smíšeného lineárního modelu procedury MIXED programu SAS. V modelu byly zohledněny náhodné efekty plemeníka a porážkového dne a pevný efekt příslušného genotypu.

Výpočet skupin MK:

SFA = C14:0 + C16:0 + C18:0

MUFA = C14:1 n-5 + C16:1 n-7 + C18:1 n-7 + C18:1 n-9 + C18:1 n-9t + C18:1 n-11t

PUFA = C18:2 n-6 + C20:3 n-6 + C20:4 n-6 + C22:4 n-6 + C18:3 n-3 + C20:5 n-3 + C22:5 n-3 + C22:6 n-3

Výpočet aterogenního indexu:

AI = (C12:0 + 4 × C14:0 + C16:0)/(MUFA + PUFA) (Chilliard and Ferlay, 2004)

Tabulka 5: Sekvence použitých primerů

Polymorfismus		
FABP4 c.220A>G	Forward Primer Seq	CACCATTAAATCAGAAAGCACCTTT
	Reverse Primer Seq.	TTCTTTATTTCTCACCTTGACTTTTCCT
	Reporter 1 Sequence	CAGGAATTTGATGAAGTC
	Reporter 2 Sequence	AATTTGATGAAATCACTCC
STAT5A g.9501G>A	Forward Primer Seq	CAGGGTGCATACAGGACAGT
	Reverse Primer Seq.	TGCACTCACTGCCAAGCA
	Reporter 1 Sequence	CTCCGTTGGGCC
	Reporter 2 Sequence	TCCGCTGGGCC
FASN g.16024G>A	Forward Primer Seq	GCAGGTCCTGGTGTCCAC
	Reverse Primer Seq.	GGCGGCCTCAGTGATAAGG
	Reporter 1 Sequence	ACGTCAGCACACTGG
	Reporter 2 Sequence	CGTCAGCGCACTGG
FASN g.17924A>G	Forward Primer Seq	CTCCACCACCGTGTTC
	Reverse Primer Seq.	CCTGTACACTGTAGGCCATAGGT
	Reporter 1 Sequence	CCTGGCCACCAAGC
	Reporter 2 Sequence	CTGGCCGCCAAGC
DGAT1 g.1043_1044delinsAA <sup>a</sup>	Forward Primer Seq	CGCTTGCTCGTAGCTTTGG
	Reverse Primer Seq.	CGCGGTAGGTCAGGTTGTC
	Reporter 1 Sequence	CGTTGGCCTTCTTAC
	Reporter 2 Sequence	TTGGCCGCCTTAC
PPARGC1A c.1892+19C>T	Forward Primer Seq	GGCGGCCAGGTAATGAT
	Reverse Primer Seq.	ACATTTTGTCTACTCGAGGGATAAGA
	Reporter 1 Sequence	ACGTTTCGCCTCCCTC
	Reporter 2 Sequence	ACGTTTCGCCTCCCTC
PPARGC1A c.1790+514G>A	Forward Primer Seq	GAAAGCCGTTTATGTTAAGACAGA
	Reverse Primer Seq.	CAAAAAGGGCATTGCAACTG
	Reporter 1 Sequence	ATGCTGATAAACTGAGT
	Reporter 2 Sequence	TCATGCTGATAAACTGGGT

<sup>a</sup> Schennink et al. (2007)

## II. 3.2. Výsledky a diskuse

### II. 3.2.1. Funkce zkoumaných kandidátních genů, frekvence genotypů a minoritní alely

Všechny geny, které jsme zahrnuli do naší analýzy, buď kódují enzymy podílející se na fyziologických procesech spojených s absorpcí, syntézou nebo desaturací MK, nebo jako transkripční faktory regulují expresi lipogenních genů. Lze je tedy považovat za kandidátní geny potenciálně ovlivňující zastoupení MK v tukové tkáni skotu.

- SCD1: Kóduje enzym stearyl-CoA desaturase (SCD), který je zodpovědný za přeměnu SFA na příslušné MUFA inzercí dvojně vazby na pozici mezi uhlíky 9 a 10. Tento enzym se rovněž podílí na endogenní produkci isomeru *cis* 9 *trans* 11 konjugované kyseliny linolové (*c9 t11* CLA).
- FASN: Kóduje enzym fatty acid synthase (FAS), prostřednictvím kterého jsou z acetyl-CoA a malonyl-CoA syntetizovány SFA až do počtu 16 uhlíků.

- DGAT1: Kóduje enzym diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1), který hraje klíčovou úlohu při syntéze triacylglycerolů.
- FABP4: Kóduje enzym FABP4, který se účastní procesů hydrolýzy lipidů a intracelulárního přenosu mastných kyselin.
- STAT5: Transkripční faktor s regulační úlohou v procesu adipogeneze.
- SREBP-1: Transkripční faktor, který reguluje expresi lipogenních genů v tukové tkáni.
- PPARGC1A: Transkripční faktor hrající komplexní úlohu při regulaci syntézy a metabolismu tuků.

Oblast výskytu jednotlivých polymorfismů a zastoupení genotypů a minoritní alely jsou uvedeny v Tabulce 6. Alelické a genotypové frekvence se mohou lišit mezi jednotlivými plemeny nebo populacemi skotu, což se potvrdilo i v našem sledování. Na rozdíl od studií, ve kterých byly použity populace holštýnského a japonského černého plemene (Hoashi et al., 2007; Schennink et al., 2007), frekvence minoritní alely byla v naší zkoumané populaci českého strakatého skotu velmi nízká (<0.1) u polymorfismů genů DGAT1, SREBP-1 a PPARGC1A (c.1790+514G>A), což se projevilo v nízkém počtu homozygotních zvířat a pro tyto polymorfismy tedy nebylo možné provést plnohodnotnou asociační analýzu.

Tabulka 6: Frekvence genotypů a minoritní alely (FMinA)

Gen	Polymorfismus	Oblast		Frekvence genotypů			FMinA
DGAT1	g.1043_1044 delinsAA	BTA 14	Exon 8	AA	AK	KK	K
				0.89	0.11	0.00	0.06
FABP4	c.220A>G	BTA 14	Exon 2	II	IV	VV	I
				0.24	0.49	0.27	0.49
FASN	g.16024G>A	BTA 19	Exon 34	AA	AT	TT	T
				0.60	0.35	0.05	0.23
FASN	g.17924A>G	BTA 19	Exon 39	TT	TA	AA	T
				0.09	0.35	0.56	0.26
PPARGC1A	c.1892+19C>T	BTA 6	Intron 9	CC	CT	TT	T
				0.71	0.27	0.02	0.15
PPARGC1A	c.1790+514G>A	BTA 6	Intron 8	GG	GA	AA	A
				0.81	0.19	0.00	0.10
SCD1	c.878C>T	BTA 5	Exon 5	AA	AV	VV	V
				0.29	0.48	0.23	0.47
SREBP-1	84-bp Del	BTA 5	Intron 5	LL	LS	SS	S
				0.83	0.16	0.01	0.09
STAT5A	g.9501G>A	BTA 19	Intron 9	GG	GA	AA	G
				0.10	0.42	0.48	0.31

### II. 3.2.2. Vliv genotypů na zastoupení MK v intramuskulárním a podkožním tuku

Zvířata použitá v našem sledování byli býci stejného plemene, jejichž odchov a výkrm byl realizován ve stejných podmínkách, a kteří byli poraženi v téměř shodném věku. Přesto byly variační koeficienty pro obsah jednotlivých MK, skupin MK a výši aterogenního indexu v intramuskulárním i podkožním tuku poměrně vysoké a pohybovaly se v rozpětí od 5 do 43 % (Tabulka 7). Je zřejmé, že určitá část této variability je podmíněna genetickými faktory.

Tabulka 7: Průměry (Mean), směrodatné odchytky (STD), variační koeficienty (CV), minimální (MIN) a maximální (MAX) hodnoty sledovaných znaků v intramuskulárním (n=634) a podkožním tuku (n=421)

	Intramuskulární tuk					Podkožní tuk				
	Mean	STD	CV (%)	MIN	MAX	Mean	STD	CV (%)	MIN	MAX
C14_0	2,6	0,47	18,3	1,5	4,3	2,9	0,50	17,4	1,5	4,6
C14_1_N5	0,4	0,13	35,1	0,1	1,1	1,3	0,41	30,8	0,4	2,6
C16_0	26,0	1,85	7,1	20,5	31,0	24,7	2,06	8,4	18,4	29,9
C16_1_N7	2,6	0,51	19,9	1,2	4,3	6,5	1,42	21,9	3,4	11,3
C18_0	18,9	2,04	10,8	13,5	25,4	10,5	1,99	18,9	5,6	17,0
C18_1_N9	37,1	2,83	7,6	27,9	46,0	44,9	2,80	6,2	36,9	52,8
C18_2_N6	4,7	1,84	39,5	1,7	13,0	2,0	0,38	19,3	1,0	3,6
C18_3_N3	0,6	0,17	28,3	0,3	1,3	0,4	0,07	19,2	0,2	0,6
CLA9_11	0,3	0,07	25,3	0,1	0,8	0,5	0,10	19,6	0,3	1,1
SFA	47,5	2,60	5,5	38,0	55,2	38,1	3,46	9,1	27,6	47,9
MUFA	40,1	3,10	7,7	29,8	49,8	52,8	3,18	6,0	43,2	61,6
PUFA	7,0	2,69	38,6	2,9	18,8	2,5	0,45	17,7	1,5	4,4
M_S	0,8	0,10	11,4	0,6	1,2	1,4	0,22	15,5	0,9	2,2
AI <sup>a</sup>	0,8	0,10	13,4	0,5	1,1	0,7	0,10	15,2	0,4	1,0
PEE <sup>b</sup>	35,9	16,44	45,8	0,0	119,0					

<sup>a</sup> AI – aterogenní index

<sup>b</sup> PEE – petroletherový extrakt – obsah intramuskulárního tuku (g/kg svaloviny)

Provedli jsme asociační analýzu, v rámci které jsme hodnotili vliv genotypů všech zkoumaných polymorfismů na složení mastných kyselin (tg MK/100 g MK celkem) tukové tkáně skotu. Statisticky významný efekt na fenotypové zastoupení některých MK ze skupin SFA a MUFA v intramuskulárním i podkožním tuku byl zjištěn pouze u SNP (polymorfismus jednoho nukleotidu) genů SCD1 a FASN. Změny se týkaly zejména SFA a MUFA s délkou uhlíkového řetězce C14 až C18. To odpovídá oblasti fyziologického působení enzymů, které geny SCD1 a FASN kódují.

Enzym stearoyl-CoA desaturase (SCD) je jedním z nejvýznamnějších enzymů podílejících se na procesu tvorby a přeměny MK a působí nejen v adiposní tkáni, ale i např. v mléčné žláze, kde ovlivňuje zastoupení MK v mléce (Conte et al., 2010). Tento enzym je zodpovědný za přeměnu SFA na příslušné MUFA inzercí dvojně vazby na pozici mezi uhlíky 9 a 10 a dále se podílí na endogenní produkci isomeru *cis* 9 *trans* 11 konjugované kyseliny linolové (*c*9 *t*11 CLA). U této specifické MK se předpokládá řada příznivých zdravotních účinků, které však dosud byly bezpečně prokázány pouze na zvířecích modelech. Enzym je kódován genem SCD, který se u skotu vyskytuje ve dvou isoformách – SCD1 exprimovaný zejména v adiposní tkáni a SCD5 exprimovaný zejména v mozku. Námi zkoumaná mutace c.878C>T se vyskytuje v genu SCD1 v exonu 5 na chromozomu BTA 5 a způsobuje substituci aminokyselin alanin/valin. Z našich výsledků vyplývá, že enzym SCD kódovaný genem SCD1 a alelou A analyzované mutace je nejúčinnější při desaturaci kyseliny myristové (C14:0) na kyselinu myristolejovou (C14:1 n-5) (Tabulka 8), což potvrzují i výsledky další práce, ve které bylo použito simentálské plemeno (Orru et al., 2011). Statisticky významný efekt byl zaznamenán i u zastoupení kyseliny stearové (C18:0), olejové (C18:1 n-9) a *c*9 *t*11 CLA. Vliv genotypu SCD1 se rovněž projevil u obsahu intramuskulárního tuku.

Tabulka 8: Vliv genotypu genu SCD1 na obsah mastných kyselin (g/100 g MK) v intramuskulárním (n=634) a podkožním tuku (n=421)

	Intramuskulární tuk				Podkožní tuk			
	AA (180)	AV (308)	VV (146)	P- value	AA (114)	AV (212)	VV (95)	P-value
C14:0	2,56	2,52	2,63	0,070	2,85 <sup>a</sup>	2,84 <sup>a</sup>	3,01 <sup>b</sup>	0,012
C16:0	26,1	25,8	26,1	0,035	24,7	24,5	24,6	0,637
C18:0	18,6 <sup>a</sup>	19,0 <sup>ab</sup>	19,2 <sup>b</sup>	0,027	10,3 <sup>a</sup>	10,4 <sup>ab</sup>	10,9 <sup>b</sup>	0,043
C14:1	0,44 <sup>a</sup>	0,36 <sup>b</sup>	0,30 <sup>c</sup>	<0,001	1,53 <sup>a</sup>	1,30 <sup>b</sup>	1,09 <sup>c</sup>	<0,001
C16:1	2,55	2,59	2,63	0,329	6,41	6,56	6,52	0,623
C18:1	37,2 <sup>a</sup>	37,2 <sup>a</sup>	36,3 <sup>b</sup>	0,002	45,0	45,2	44,6	0,251
c9 t11 CLA	0,27	0,27	0,25	0,085	0,54 <sup>a</sup>	0,53 <sup>a</sup>	0,50 <sup>b</sup>	0,018
SFA	47,3 <sup>a</sup>	47,2 <sup>a</sup>	48,2 <sup>b</sup>	0,004	37,9	37,8	38,6	0,136
MUFA	40,2 <sup>a</sup>	40,2 <sup>a</sup>	39,3 <sup>b</sup>	0,005	52,9	53,0	52,3	0,109
MUFA/SFA	0,85 <sup>a</sup>	0,85 <sup>a</sup>	0,82 <sup>b</sup>	0,001	1,42	1,42	1,38	0,159
AI <sup>d</sup>	0,78 <sup>ab</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,79 <sup>b</sup>	0,016	0,66	0,65	0,68	0,099
PEE <sup>e</sup>	40,0 <sup>a</sup>	33,9 <sup>b</sup>	34,3 <sup>b</sup>	<0,001				

<sup>a, b, c</sup> Hodnoty v řádce týkající se daného polymorfismu a typu tukové tkáně, které jsou označeny odlišnými symboly, se významně liší (P<0.05).

<sup>d</sup> AI – aterogenní index

<sup>e</sup> PEE - petroletherový extrakt – obsah intramuskulárního tuku (g/kg svaloviny)

Gen FASN kóduje enzym fatty acid synthase (FAS), prostřednictvím kterého jsou z acetyl-CoA a malonyl-CoA syntetizovány SFA až do počtu 16 uhlíků. Obě zkoumané mutace g.16024G>A a g.17924A>G se nacházejí ve funkčně odlišných částech genu FASN a způsobují záměnu stejných aminokyselin threonin/alanin. Mutace nejsou ve vzájemné vazebné nerovnováze ( $r^2 = 0.04$ ), což znamená, že efekt jedné mutace vysvětluje variabilitu druhé mutace pouze z velmi malé části. Proto byl nezávisle hodnocen vliv každého z obou SNP. Z výsledků uvedených v Tabulkách 9 a 10 vyplývá, že mutace mohou být příčinou změn v aktivitě enzymu FAS, které mají za následek rozdílné zastoupení jednotlivých SFA, zejména kyselin myristové (C14:0) a palmitové (C16:0), u různých genotypů. Významný vliv však byl zjištěn i na podíl MUFA a zejména kyseliny olejové (C18:1), což odpovídá výsledkům prací jiných autorů, kteří hodnotili vliv těchto mutací u jiných populací skotu (Zhang et al., 2008; Abe et al., 2009). Efekt genotypu byl dále stanoven pro hodnoty aterogenního indexu (AI). AI je počítán jako poměr mezi „škodlivými“ SFA a součtem „neutrálních“ MUFA a „prospěšných“ PUFA ( $AI = (C12:0 + 4 \times C14:0 + C16:0)/(MUFA + PUFA)$ ) a může být použit pro aproximativní hodnocení rizika vzniku kardiovaskulárních onemocnění na základě obsahu MK. Nižší hodnota AI tedy znamená nižší riziko a „zdravější“ produkt. Z výsledků vyplývá, že oba genotypy FASN měly na vyšší AI vysoce signifikantní vliv. Pomocí genotypů g.16024G>A a g.17924A>G bylo vysvětleno 1,8 respektive 4,9 % celkové fenotypové variability AI u intramuskulárního tuku a 2,3 respektive 6,3 % variability AI u podkožního tuku.

Tabulka 9: Vliv genotypu genu FASN (g.16024G>A) na obsah mastných kyselin (g/100 g MK) v intramuskulárním (n=634) a podkožním tuku (n=421)

	FASN g.16024G>A							
	Intramuskulární tuk				Podkožní tuk			
	AA (382)	AT (224)	TT (28)	P-value	AA (239)	AT (158)	TT (24)	P-value
C14:0	2,63 <sup>a</sup>	2,46 <sup>b</sup>	2,33 <sup>b</sup>	<0,001	2,99 <sup>a</sup>	2,75 <sup>b</sup>	2,54 <sup>b</sup>	0,043
C16:0	26,1 <sup>a</sup>	25,6 <sup>b</sup>	25,6 <sup>ab</sup>	0,001	24,7	24,4	24,4	0,231
C18:0	18,8	19,2	18,7	0,057	10,5	10,4	10,9	0,435
C14:1	0,39 <sup>a</sup>	0,35 <sup>b</sup>	0,32 <sup>b</sup>	<0,001	1,37 <sup>a</sup>	1,27 <sup>a</sup>	1,15 <sup>b</sup>	0,006
C16:1	2,61	2,55	2,51	0,257	6,59 <sup>a</sup>	6,50 <sup>a</sup>	5,76 <sup>b</sup>	0,013
C18:1	36,7 <sup>a</sup>	37,3 <sup>b</sup>	38,4 <sup>b</sup>	<0,001	44,6 <sup>a</sup>	45,2 <sup>b</sup>	46,1 <sup>b</sup>	<0,001
c9 t11 CLA	0,26	0,26	0,27	0,327	0,52 <sup>a</sup>	0,54 <sup>ab</sup>	0,57 <sup>b</sup>	0,032
SFA	47,6	47,2	46,8	0,095	38,3	37,6	37,9	0,127
MUFA	39,7 <sup>a</sup>	40,2 <sup>ab</sup>	41,3 <sup>b</sup>	0,012	52,6	53,3	53,0	0,076
MUFA/SFA	0,84 <sup>a</sup>	0,86 <sup>ab</sup>	0,89 <sup>b</sup>	0,011	1,39	1,44	1,41	0,081
AI <sup>d</sup>	0,79a	0,76b	0,74b	<0,001	0,67 <sup>a</sup>	0,64 <sup>b</sup>	0,63 <sup>ab</sup>	0,003
PEE <sup>e</sup>	35,1	36,1	41,1	0,165				

a, b, c, d, e Viz Tabulka 8

Tabulka 10: Vliv genotypu genu FASN (g.17924A>G) na obsah mastných kyselin (g/100 g MK) v intramuskulárním (n=634) a podkožním tuku (n=421)

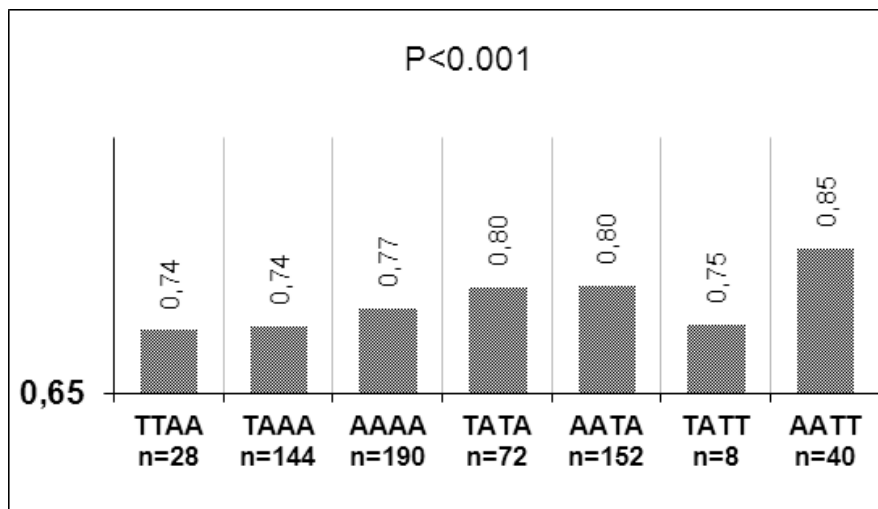
	FASN g.17924A>G							
	Intramuskulární tuk				Podkožní tuk			
	TT (48)	TA (224)	AA (362)	P-value	TT (42)	TA (148)	AA (231)	P-value
C14:0	2,83 <sup>a</sup>	2,67 <sup>a</sup>	2,45 <sup>b</sup>	<0,001	3,34 <sup>a</sup>	2,99 <sup>b</sup>	2,73 <sup>c</sup>	<0,001
C16:0	26,7 <sup>a</sup>	26,3 <sup>a</sup>	25,6 <sup>b</sup>	<0,001	25,5 <sup>a</sup>	24,8 <sup>a</sup>	24,3 <sup>b</sup>	<0,001
C18:0	18,9	18,8	19,0	0,557	10,9	10,3	10,5	0,182
C14:1	0,43 <sup>a</sup>	0,38 <sup>a</sup>	0,36 <sup>b</sup>	<0,001	1,43 <sup>a</sup>	1,39 <sup>a</sup>	1,26 <sup>b</sup>	0,002
C16:1	2,69 <sup>ab</sup>	2,66 <sup>a</sup>	2,53 <sup>b</sup>	0,002	6,58	6,70	6,38	0,063
C18:1	35,8 <sup>a</sup>	36,5 <sup>a</sup>	37,5 <sup>b</sup>	<0,001	43,3 <sup>a</sup>	44,6 <sup>a</sup>	45,6 <sup>c</sup>	<0,001
c9 t11 CLA	0,25	0,27	0,26	0,202	0,50	0,53	0,53	0,304
SFA	48,5 <sup>a</sup>	47,7 <sup>a</sup>	47,1 <sup>b</sup>	<0,001	39,7 <sup>a</sup>	38,1 <sup>b</sup>	37,6 <sup>b</sup>	0,001
MUFA	38,9 <sup>a</sup>	39,6 <sup>a</sup>	40,4 <sup>b</sup>	<0,001	51,3 <sup>a</sup>	52,7 <sup>b</sup>	53,2 <sup>b</sup>	0,001
MUFA/SFA	0,81 <sup>a</sup>	0,83 <sup>a</sup>	0,86 <sup>b</sup>	<0,001	1,31 <sup>a</sup>	1,40 <sup>b</sup>	1,43 <sup>b</sup>	0,003
AI <sup>d</sup>	0,84a	0,80b	0,75c	<0,001	0,73a	0,67b	0,64c	<0,001
PEE <sup>e</sup>	33,9	35,6	36,0	0,724				

a, b, c, d, e Viz Tabulka 8

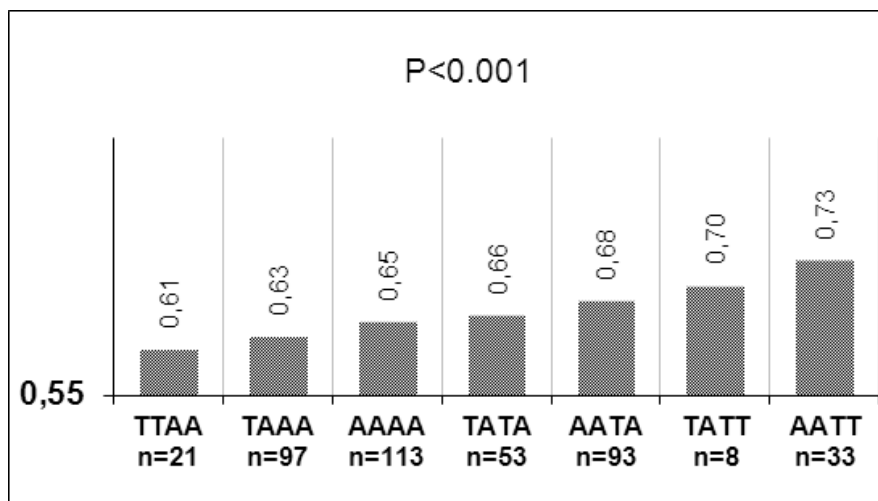


Vzhledem ke zřejmému vlivu obou jednotlivých SNP genu FASN na podobné spektrum MK a faktu, že každý SNP vysvětluje jinou část variability těchto MK, byl pro asoiační analýzu dále využit sdružený genotyp vzniklý kombinací obou jednotlivých genotypů genu FASN. Z možných 9 genotypů jich bylo hodnoceno pouze 7, protože genotypy TTTT a TTTA se vyskytovaly pouze u malého počtu zvířat. Vliv kombinovaného genotypu polymorfismů genu FASN na výši AI je demonstrován v Grafech 1 a 2. Z výsledků vyplývá, že AI je poměrně výrazně a vysoce signifikantně tímto genotypem ovlivňován. Celková variabilita AI byla pomocí kombinovaného genotypu FASN vysvětlena z 6,3 % u intramuskulárního a z 7,6 % u podkožního tuku.

Graf 1: Graf 1: Vliv kombinovaného genotypu polymorfismů FASN genu (g.16024G>A a g.17924A>G) na výši aterogenního indexu vypočteného pro intramuskulární tuk



Graf 1: Graf 1: Vliv kombinovaného genotypu polymorfismů FASN genu (g.16024G>A a g.17924A>G) na výši aterogenního indexu vypočteného pro podkožní tuk



## II.4. Závěr

Bezpečnost a zdravotní nezávadnost potravin je aktuální téma, jehož význam neustále roste. Obsah MK v hovězím masu je vnímán jako rizikový faktor s možnými zdravotními dopady pro konzumenta. Na druhé straně se u některých MK předpokládá pozitivní účinek na lidské zdraví a hovězí maso je jedním z mála jejich přirozených zdrojů (CLA, n-3 PUFA). Proto lze možnosti modifikace profilu MK považovat za výzvu, jak chemické složení masa přiblížit současným dietetickým doporučením pro příjem a složení živočišných tuků.

Z řady faktorů, které složení MK v hovězím masu ovlivňují, jsme se zaměřili na genetické faktory, zejména na vliv genotypů některých lipogenních genů a transkripčních faktorů na zastoupení jednotlivých MK, skupin MK a výši některých indexů. Před samotným využitím v rámci šlechtitelských postupů je však nutné prokázat relevantnost příslušných genů ve vztahu ke sledovaným parametrům kvality masa. V naší práci byly ověřeny a modifikovány metody stanovení 9 polymorfismů nacházejících se v 7 kandidátních genech ovlivňujících metabolismus lipidů u českého strakatého skotu. Významný efekt na složení MK intramuskulárního a podkožního tuku byl zjištěn u mutace c.878C>T genu SCD1 a obou mutací genu FASN (g.16024G>A a g.17924A>G). Významný efekt některých genotypů se rovněž projevil při použití aterogenního indexu, pomocí kterého je odhadováno zdravotní riziko v souvislosti se zastoupením jednotlivých MK v tukové tkáni. Frekvence „žádoucích“ genotypů v testované populaci, předpokládaná střední až vysoká dědivost MK spolu s příznivými genetickými korelacemi k dalším užitkovým znakům skotu a prokazatelný vliv na zastoupení MK důležitých ze zdravotního hlediska dávají předpoklad využití těchto SNP jako genetických markerů při případné selekci na maso s modifikovaným obsahem MK v populaci českého strakatého skotu.

## III. Srovnání novosti postupů a zdůvodnění

Snahám o modifikaci složení MK masa, ale i mléka, je v současnosti věnována značná pozornost. Naprostá většina dosud aplikovaných postupů byla založena na úpravách krmné dávky, kdy se profil MK v krmivu do určité míry projevil ve změnách MK v tkáních a následně v živočišných produktech. Využití molekulárně-genetických technik k identifikaci genetických markerů s potenciálem k budoucímu využití při selekci a šlechtění českého strakatého skotu lze považovat za zcela nový postup.

## IV. Popis uplatnění certifikované metody

Metodika je určena organizacím zabývajícím se šlechtěním českého strakatého skotu i chovatelům tohoto plemene, kteří mají zájem o cílenou produkci hovězího masa s modifikovaným profilem MK a tedy s vyšší nutriční hodnotou z hlediska současných zdravotních doporučení pro konzumenty.

## V. Ekonomické aspekty

Podle zákona č. 110/1997 Sb. O potravinách a zákona č. 154/2000 Sb. O šlechtění, plemenitbě Hovězí maso je vnímáno jako potravina s nevhodným složením mastných kyselin (zejména vysoký obsah některých nasycených mastných kyselin). Výsledky práce je možné využít pro produkci masa se sníženým podílem těchto složek, což se může pozitivně odrazit na zdraví konzumentů. Předpokládáme využití nově získaných poznatků o vlivu polymorfismů na profil mastných kyselin tukové tkáně skotu při produkci hovězího masa s vyšší nutriční hodnotou. Vycházíme z předpokladu, že český strakatý skot se podílí na produkci masa v ČR přibližně 30 000 t ročně. Pokud by 5 % (1 500 t) tohoto objemu pocházelo od zvířat s žádoucím genotypem, chovatelé a výkrmci ho mohou realizovat za o cca 15% vyšší cenu (cca 9 Kč/kg), což zvýší celkový výnos o 13 500 tis. Kč.

## VI. Seznam použité související literatury

- Abe, T., Saburi, J., Hasebe, H., Nakagawa, T., Misumi, S., Nade, T., Nakajima, H., Shoji, N., Kobayashi, M., Kobayashi, E., 2009. Novel Mutations of the Fasn Gene and Their Effect on Fatty Acid Composition in Japanese Black Beef. *Biochemical Genetics* 47, 397-411.
- Barton, L., Bures, D., Kudrna, V., 2010. Meat Quality and Fatty Acid Profile of the Musculus Longissimus Lumborum in Czech Fleckvieh, Charolais and Charolais X Czech Fleckvieh Bulls Fed Different Types of Silages. *Czech Journal of Animal Science* 55, 479-487.
- Biesalski, H.-K., 2005. Meat as a component of a healthy diet - are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? *Meat Science* 70, 509-524.
- Bureš, D., Bartoň, L., Zahrádková, R., Teslík, V., 2006. Chemical composition, sensory characteristics and fatty acid profile of muscle from Aberdeen Angus, Charolais, Simmental and Hereford bulls. *Czech Journal of Animal Science* 51, 279-284.
- Conte, G., Mele, M., Chessa, S., Castiglioni, B., Serra, A., Pagnacco, G., Secchiari, P., 2010. Diacylglycerol Acyltransferase 1, Stearoyl-Coa Desaturase 1, and Sterol Regulatory Element Binding Protein 1 Gene Polymorphisms and Milk Fatty Acid Composition in Italian Brown Cattle. *Journal of Dairy Science* 93, 753-763.
- De Henauw, S., Van Camp, J., Sturtewagen, G., Matthys, C., Bilau, M., Warnants, N., Raes, K., Van Oeckel, M., De Smet, S., 2007. Simulated Changes in Fatty Acid Intake in Humans Through N-3 Fatty Acid Enrichment of Foods From Animal Origin. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87, 200-211.
- De Smet, S., Raes, K., Demeyer, D., 2004. Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: a review. *Anim. Res.* 53, 81-98.
- Hoashi, S., Ashida, N., Ohsaki, H., Utsugi, T., Sasazaki, S., Taniguchi, M., Oyama, K., Mukai, F., Mannen, H., 2007. Genotype of Bovine Sterol Regulatory Element Binding Protein-1 (Srebp-1) Is Associated With Fatty Acid Composition in Japanese Black Cattle. *Mammalian Genome* 18, 880-886.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., 2004. Dietary lipids and forage interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reproduction Nutrition Development* 44, 467-492.
- Inoue, K., Kobayashi, M., Shoji, N., Kato, K., 2011. Genetic Parameters for Fatty Acid Composition and Feed Efficiency Traits in Japanese Black Cattle. *Animal* 5, 987-994.
- Kelly, M.J., Tume, R.K., Newman, S., Thompson, J.M., 2013. Genetic variation in fatty acid composition of subcutaneous fat in cattle. *Animal Production Science* 53, 129-133.
- Kvapilík, J., Růžička, Z., Bucek, P., 2012. Vybrané údaje z ústřední evidence skotu. Ročenka 2011 Chov skotu v České republice. Českomoravská společnost chovatelů, a.s., Praha, p. 91.
- Liu, K., Muse, S.V., 2005. PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic data. *Bioinformatics* 21, 2128-2129.
- Nicklas, T.A., O'Neil, C.E., Zanovec, M., Keast, D.R., Fulgoni, V.L., III., 2012. Contribution of Beef Consumption to Nutrient Intake, Diet Quality, and Food Patterns in the Diets of the Us Population. *Meat Science* 90, 152-158.
- Nogi, T., Honda, T., Mukai, F., Okagaki, T., Oyama, K., 2011. Heritabilities and Genetic Correlations of Fatty Acid Compositions in Longissimus Muscle Lipid With Carcass Traits in Japanese Black Cattle. *Journal of Animal Science* 89, 615-621.
- Orru, L., Cifuni, G.F., Piasentier, E., Corazzin, M., Bovolenta, S., Molioli, B., 2011. Association Analyses of Single Nucleotide Polymorphisms in the Lep and Scd1 Genes on the Fatty Acid Profile of Muscle Fat in Simmental Bulls. *Meat Science* 87, 344-348.
- Salter, A.M., 2013. Dietary fatty acids and cardiovascular disease. *Animal* 7, s. 1, 163-171.
- Sexten, A.K., Krehbiel, C.R., Dillwith, J.W., Madden, R.D., McMurphy, C.P., Lalman, D.L., Mateescu, R.G., 2012. Effect of Muscle Type, Sire Breed, and Time of Weaning on Fatty Acid Composition of Finishing Steers. *Journal of Animal Science* 90, 616-625.

- Shingfield, K.J., Bonnet, M., Scollan, N.D., 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal* 7, s1, 132-162.
- SCHČSS, 2012. Šlechtitelský program českého strakatého skotu. Svaz chovatelů českého strakatého skotu, cit. 11-04-2013, dostupné z: <http://www.cestr.cz>.
- Schennink, A., Stoop, W.M., Visker, M.H.P.V., Heck, J.M.L., Bovenhuis, H., van der Poel, J.J., van Valenberg, H.J.F., van Arendonk, J.A.M., 2007. DGAT1 underlies large genetic variation in milk-fat composition of dairy cows. *Animal Genetics* 38, 467-473.
- Taniguchi, M., Utsugi, T., Oyama, K., Mannen, H., Kobayashi, M., Tanabe, Y., Ogino, A., Tsuji, S., 2004. Genotype of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. *Mammalian Genome* 14, 142-148.
- Wood, J.D., Enser, M., Richardson, R.I., Whittington, F.M., 2008. Fatty acids in meat and meat products. In: Ching Kuanh Chow (Ed.), *Fatty acids in foods and their health implications*. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL, 87-108.
- Woods, V.B., Fearon, A.M., 2009. Dietary Sources of Unsaturated Fatty Acids for Animals and Their Transfer Into Meat, Milk and Eggs: a Review. *Livestock Science* 126, 1-20.
- Zhang, S., Knight, T.J., Reecy, J.M., Beitz, D.C., 2008. DNA polymorphism in bovine *fatty acid synthase* are associated with beef fatty acid composition. *Animal Genetics* 39, 62-70.

## VII. Seznam publikací, které předcházejí metodice

- Bartoň, L., Bureš, D., Zahrádková, R., Kott, T. (2009). Možnosti ovlivnění zastoupení mastných kyselin v hovězím mase. *Maso*, 20, (1):19-20.
- Bartoň, L., Kott, T., Bureš, D., Řehák, D., Zahrádková, R., Kottová, B. (2009). The association of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) and sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1) genotypes with the adipose tissue fatty acid composition in Fleckvieh cattle. In: *Book of Abstracts of the 60th Annual Meeting of the EAAP*, Barcelona, Spain: 146
- Bartoň, L., Kott, T., Bureš, D., Řehák, D., Zahrádková, R., Kottová, B. (2010). The polymorphisms of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) and sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1) genes and their association with the fatty acid profile of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls. *Meat Science*, 85, 15-20.
- Bartoň, L., Bureš, D., Kott, T., Kottová, B. (2011). Effects of DGAT1, FABP4, FASN, PPARGC1A, SCD1, SREBP-1 and STAT5A gene polymorphisms on the fatty acid composition in Fleckvieh bulls. In: *57th International Congress of Meat Science and Technology*, Gent, Belgium: 048.
- Bartoň, L., Bureš, D., Kott, T., Řehák, D. (2011). Effect of sex and age on bovine muscle and adipose fatty acid composition and stearoyl-CoA desaturase mRNA expression. *Meat Science*, 89: 444-450.
- Bureš, D., Bartoň, L., Kott, T. (2011). Effects of sex and age on the expression of stearoyl-CoA desaturase in bovine muscle and adipose tissue. In: *57th International Congress of Meat Science and Technology*, Gent, Belgium: 300.
- Bartoň, L., Bureš, D., Kott, T., Řehák, D. (2012). Adipose tissue-specific expression of lipogenic genes in different cattle breeds: relationship to fatty acid composition. In: *58<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology*. Montreal, Canada, C-60, 37.
- Bartoň, L., Bureš, D., Kott, T. (2012). Vliv genetických markerů na zastoupení mastných kyselin v tukové tkáni skotu. In: *Šlechtění na masnou užitkovost a aktuální otázky produkce jatečných zvířat*. Brno, 112-115.
- Bureš, D., Bartoň, L., Řehák, D. (2012). Fatty acid profile of various adipose tissue depots in bulls of different breeds. In: *EAAP - 63<sup>rd</sup> Annual Meeting*. Bratislava, Slovakia, Session 11, 80.
- Bartoň, L., Bureš, D., Kott, T. (2013). Vliv genetických faktorů na obsah mastných kyselin. *Veterinářství*, 63, (1), 46-50.

Vydal: Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.  
Přátelství 815, 104 00 Praha Uhřetěves

Název: **Využití kandidátních genů k modifikaci profilu mastných kyselin v tukové tkáni českého strakatého skotu**

Autoři: Ing. Luděk Bartoň, Ph.D. podíl práce 40 %  
Ing. Daniel Bureš, Ph.D. podíl práce 30 %  
Ing. Tomáš Kott, Ph.D. podíl práce 30 %

Oponenti: prof. Ing. Jan Frelich, CSc.  
Zemědělská fakulta Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích

Ing. Pavel Trčka, Ph.D.  
Ministerstvo zemědělství České republiky

ISBN 978-80-7403-110-6

Dedikace: Metodika vznikla v rámci řešení projektu NAZV QH 81228.

Autorka fotografie na titulní straně Martina Sasáková, CRV.

Vydáno bez jazykové úpravy.