

# FREKVENCE POLYMORFISMŮ V GENECH *DGATI*, *FASN*, *LEP* A *SCD1* V DOJENÉ POPULACI SKOTU V ČESKÉ REPUBLICE

Lenka Hanusová<sup>1</sup>, Jindřich Čítek<sup>1</sup>, Eva Samková<sup>1</sup>,  
Robert Kala<sup>1</sup>, Zuzana Křížová<sup>1</sup>, Oto Hanuš<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,  
Zemědělská fakulta

<sup>2</sup> Výzkumný ústav mlékárenský, s.r.o.

**Polymorphism frequencies of *DGATI*, *FASN*,  
*LEP* and *SCD1* genes in milking cattle  
in the Czech Republic**

## Abstrakt

Práce měla za cíl stanovit genotypové a alelové frekvence v genech *DGATI*, *FASN*, *LEP* a *SCD1* v populaci krav v České republice. Analyzováno bylo 743 zvířat pro polymorfismy v genech *DGATI*, *FASN* a *SCD1*, 631 pro gen *LEP*. Nejčastějším zjištěným genotypem v genu *DGATI* byl AA s frekvencí 0,960. Genotyp *LL* nebyl zjištěn a zcela převažovala alela *A* s frekvencí 0,980. V genu *FASN* výrazně převažoval genotyp *GG* (0,725). Nejméně četný genotyp *AA* byl zjištěn pouze u 2 jedinců. Pořadí genotypů v genu *LEP* podle frekvencí bylo *MM* (0,770), *MW* (0,190) a *WW* (0,040). Alela *M* byla v tomto genu výrazně převažující (0,865). V genu pro *SCD1* byly frekvence genotypů *CC* (0,279), *CT* (0,584) a *TT* (0,137), frekvence alel *C* (0,571), *T* (0,429).

**Klíčová slova:** dojnice, mléčný tuk, kandidátní geny, polymorfismus

## Abstract

The aim was to set genotype and allele frequencies of *DGATI*, *FASN*, *LEP* and *SCD1* genes in milking cattle of Czech Republic. In total 743 cows were analysed for polymorphisms in *DGATI*, *FASN* and *SCD1*, and 631 for *LEP*. The most frequent genotype in *DGATI* was AA (0.960), genotype *LL* was not present, and allele *A* was prevailing (0.980). As for *FASN*, genotype *GG* was prevailing (0.725), the fewest genotype *AA* was found in two animals only. The ranking of genotypes in *LEP* gene was *MM* (0.770), *MW* (0.190) and *WW* (0.040). In *SCD1* gene, the frequencies were *CC* (0.279), *CT* (0.584) and *TT* (0.137), allele frequencies *C* (0.571), *T* (0.429).

**Keywords:** dairy cows, milk fat, candidate genes, polymorphism

## Úvod

Zvyšování výkonnosti a ekonomické efektivity patří k hlavním cílům nejen v chovu dojeného skotu, ale v zemědělství obecně. Jedním ze způsobů, jak vytýčeného cíle dosáhnout, je také nalezení výkonného a ekonomicky přínosného způsobu zvyšování mléčné produkce bez nutnosti nárůstu počtu chovaných dojnic. K tomuto účelu slouží opakovaný výběr jedinců s vhodným genetickým založením a jejich využití pro tvorbu nových generací. Klasické metody výběru nejvhodnějších jedinců na základě jejich výkonnosti jsou stále častěji doplňovány metodami, jejichž základem je stanovení genotypu ve vybraných genech se vztahem k požadovaným vlastnostem.

Vzhledem k ekonomickému významu mléčné produkce a zpracování mléka se v současné době genetický výzkum v oblasti dojeného skotu zaměřuje na genetické založení tvorby mléka a zdraví vemene. Výsledkem by mělo být především prokazatelné zlepšení mléčné produkce jako celku. Nicméně, pokrok především v oblasti genetického

Ilustrativní foto  
J. Sobišková



založení jedince ve vztahu ke kvalitativním vlastnostem mléka je relativně pomalý (Ogorevc et al., 2009).

V současné době narůstá počet genů, u nichž byla popsána asociace s mléčnou produkcí dojeného skotu a technologickými vlastnostmi mléka. Mezi slibné kandidátní lokusy lze ve zmiňované oblasti zařadit i lokusy *DGATI*, *FASN*, *LEP* a *SCDI* (Berry et al., 2010; Marques et al., 2011; Inostroza et al., 2013; Li et al., 2016; Houaga et al., 2018).

Tyto čtyři potenciální geny se známou fyziologickou funkcí byly vybrány pro studii, zaměřenou na zlepšení kvalitativních vlastností mléka v populaci krav v České republice. Předkládaná práce je pouze malou částí již provedených analýz a vyhodnocuje zastoupení jednotlivých genotypů a alel v uvedených genech. Současně zjištěné frekvence porovnává s frekvencemi stanovenými v jiných populacích.

## Materiál a metody

Studie byla prováděna v pěti chovech na populaci krav, které byly převážně na 1. laktaci. Z plemenného hlediska byly v analyzovaném souboru zastoupeny dojnice českého strakatého skotu (35 %), holštýnského skotu (44 %) a skupina kříženek (21 %), kde převažovaly kříženky českého strakatého skotu (87 %). V rámci studie byly stanovovány genotypy ve čtyřech genech, a to pro diacylglycerol O-acyltransferázu 1 (*DGAT1*), syntázu mastných kyselin (*FASN*) a stearoyl CoA desaturázu (*SCDI*), u všech  $n=743$  a leptin (*LEP*)  $n=631$ .

Od dojnic, zahrnutých do studie, byly odebrány vzorky mléka, byla provedena izolace DNA pomocí automatického izolátoru DNA MagCore HF16 Plus (RBC Bioscience). Izolace probíhala podle návodu výrobce za použití izolačních kitů MagCore DNA Whole Blood Kit a MagCore Genomic DNA Tissue Kit (RBC Bioscience). Kvalita a kvantita izolované DNA byla ověřována elektroforeticky a spektrofotometricky.



Ilustrativní foto  
Ida Kraupatzová



Ilustrativní foto Ida Kraupatzová

Genotypizace všech lokusů byly provedeny metodou PCR/RFLP. Metodiky jednotlivých genotypizací vycházely z následujících studií. Gen *DGATI* byl prováděn podle metodiky Kuhn et al. (2004), gen *FASN* podle Roy et al. (2006), gen *LEP* podle Buchanan et al. (2002) a gen *SCDI* dle Inostroza et al. (2013). Výsledné genotypy byly stanoveny elektroforeticky. Ze stanovených genotypů byly vypočteny genotypové a alelové frekvence. Genetická rovnováha byla ověřena  $\chi^2$  testem.

## Výsledky a diskuze

Nejčtenějším genotypem *DGATI* byl AA (0,960), genotyp LA měl četnost 0,040. Genotyp LL nebyl zjištěn ani u jedné dojnice (Tabulka 1). Podobné výsledky byly zjištěny ve studii Pannier et al. (2010). Z devíti studovaných masných plemen se genotyp LL vyskytl pouze u dvou, a to v minimálních frekvencích. Těmito plemeny byly charolais (0,045) a fríský skot (0,036). Nejčastěji se vyskytujícím genotypem u všech studovaných plemen byl shodně s naší studií AA. Existuje však řada studií, v nichž byly genotypové frekvence odlišné od našich. Například v práci Kaupe et al. (2007) byl nejčtenějším genotyp LA (0,51), dále AA (0,31) a nejméně čtým genotyp LL (0,16). Szyda a Komisarek (2007) dokonce popsali jako nejčtenější genotyp LL s frekvencí 0,45. Genotypy LA a AA v jejich studii měly téměř stejnou četnost výskytu (0,26, resp. 0,27).

V námi studované populaci velmi výrazně převažovala alela A, jejíž frekvence dosahovala hodnoty 0,98. Tyto výsledky by mohly odkazovat na vysokou prošlechtěnost studované populace v lokusu *DGATI*. Carvajal et al. (2016) genotypizovali *DGATI* u pěti plemen skotu, alela A byla převažující u čtyř z nich včetně holštýnského skotu. U plemene jersey byla převažující alela L (0,72). Frekvence u holštýnského, jerseyjského a montbeliarského plemene se nelišila od frekvencí zjištěných v dřívějších studiích (Berry et al., 2010). Oproti tomu ve studiích Szyda a Komisarek (2007) a Kaupe et al. (2007) byla jako čtenější stanovena alela L. Její frekvence se pohybovala v jednotlivých studiích mezi 0,62 a 0,54. Zajímavostí je, že všechny uvedené studie byly prováděny na populacích holštýnského skotu.

**Tab. 1** Frekvence alel a genotypů u dojených plemen českého strakatého a holštýnského skotu v ČR

DGAT1					
Genotyp	n	Frekvence	$\chi^2$	Alela	Frekvence
AA	713	0,960	0,003 <sup>ns</sup>	A	0,980
LA	30	0,040		L	0,020
LL	0	-			
FASN					
Genotyp	n	Frekvence	$\chi^2$	Alela	Frekvence
AA	2	0,003	1,838 <sup>ns</sup>	A	0,139
AG	202	0,272		G	0,861
GG	539	0,725			
LEP					
Genotyp	n	Frekvence	$\chi^2$	Alela	Frekvence
MM	486	0,770	3,548 <sup>ns</sup>	M	0,865
MW	120	0,190		W	0,135
WW	25	0,040			
SCD1					
Genotyp	n	Frekvence	$\chi^2$	Alela	Frekvence
CC	207	0,279	3,681 <sup>ns</sup>	C	0,571
CT	434	0,584		T	0,429
TT	102	0,137			

<sup>ns</sup> non-significant

V genu *FASN* byl jako nejčastější zjištěn genotyp *GG*. Genotyp *AA* měl minimální frekvenci pouze 0,003. Pochopitelně alela *G* převažovala s frekvencí 0,870. Genotyp *GG* byl jako převažující s frekvencí 0,599 popsán rovněž Bartoněm et al. (2016), alelové frekvence odpovídaly frekvencím zjištěným u námi studované populace. Odlišné výsledky uvádí Hayakawa et al. (2015) u japonského černého skotu, *AA* (0,68), *AG* (0,29) a *GG* (0,03). Potvrdili tak dřívější výsledky uváděné Matsushashi et al. (2011).

Dalším genem, u něhož byly v této části studie stanoveny genotypy, byl *LEP*. I v tomto genu výrazně dominoval jeden genotyp, a to *MM*. Nejméně četným byl genotyp *WW*

s frekvencí pouhých 0,040. Alelové frekvence plně odpovídaly frekvencím genotypovým, alela *M* měla frekvenci 0,865 a výrazně tak převažovala nad frekvencí alely *W*. Tyto výsledky odpovídaly studii da Silvy et al. (2012), u plemene *nellore* měl nejčtenější genotyp *MM* frekvenci 0,876, *MW* (0,119) a *WW* (0,05). V další práci (Silva et al., 2014) byly genotypové frekvence posunuty směrem k heterozygotnímu genotypu *MW* (0,54). Podobné alelové frekvence popsala i Trakovická et al. (2012) u slovenského strakatého a pinzgavského skotu. Odlišné výsledky zjistili u holštýnského skotu Chebel et al. (2008), nejčtenějším genotypem byl *MW* (0,482) a nejméně četným genotypem *MM* (0,172).

V genu *SCD1* převažovaly heterozygotní genotypy *CT* (0,584) a alela *C* (0,571). Inostroza et al. (2013) uvádí frekvenci genotypů *CC* (0,384), *CT* (0,472) a *TT* (0,144), alela *C* (0,620) a *T* (0,380). Alela *C* je spojována s vyšší enzymatickou aktivitou a koncentrací mononenasycených mastných kyselin (MUFA) v mléčném tuku (Milanesi et al., 2007). *SCD1* spolu s *FASN* jsou považovány za klíčové geny v syntéze MUFA, přičemž role *SCD1* v desaturaci mastných kyselin může být epistaticky ovlivňována genotypem na *FASN* a vice versa (Kim a Ntambi, 1999; Li et al., 2011). Všechny geny byly ve sledované skupině dojníc v Hardy-Weinbergově rovnováze.

## Závěr

Byla provedena genotypizace a stanoveny alelové a genotypové frekvence u genů *DGAT1*, *FASN*, *LEP* a *SCD1* v populaci dojníc v České republice. Zjištěné výsledky byly porovnány s frekvencemi genotypů a alel stejných lokusů u populací, chovaných v různých zemích. V další fázi výzkumu bude provedena asociační analýza vlivu polymorfních variant na produkci mléka, syntézu mléčného tuku a spektrum mastných kyselin.



Ilustrativní foto J. Sobíšková



Ilustrativní foto Ida Kraupatzová

### Poděkování

Příspěvek byl zpracován s podporou Ministerstva zemědělství ČR (NAZV KUS QJ1510336) a Grantové agentury Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (GAJU 002/2016/Z).

### Seznam literatury

- BARTOŇ L., BUREŠ D., KOTT T., ŘEHÁK D. (2016): Association of polymorphisms in bovine *DGAT1*, *FABP4*, *FASN* and *PPARGC1A* genes with intramuscular fat content and the fatty acid composition of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls. *Meat Science*, 114, s. 18-23.
- BERRY D.P., HOWARD D., BOYLE P.O., WATERS S., KEARNEY J.F., MCCABE M. (2010): Associations between the K232A polymorphism in the diacylglycerol-O-transferase 1 (*DGAT1*) gene and performance in Irish Holstein-Friesian dairy cattle. *Irish Journal of Agricultural & Food Research*, 49, s. 1-9.
- BUCHANAN F.C., FITZSIMMONS C.J., VAN KESSEL A.G., THUE T.D., WINKELMAN-SIM D.C., SCHMUTZ S.M. (2002): Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genetics Selection Evolution*, 34, s. 105-116.
- CARVAJAL A.M., HUIRCAN P., 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.
- DA SILVA R.C., FERRAZ J.B.S., MEIRELLES F.V., ELER J.P., BALEIRO J.C.C., CUCCO D.C., MATTOS E.C., REZENDE F.M., SILVA S.L. (2012): Association of single nucleotide polymorphisms in the bovine leptin and leptin receptor genes with growth and ultrasound carcass traits in Nellore cattle. *Genetics and Molecular Research*, 11, s. 3721-3728.
- HAYAKAWA K., SAKAMOTO T., ISHII A., YAMAJI K., UEMOTO Y., SASAGO N., KOBAYASHI E., KOBAYASHI N., MATSUHASHI T., MARUYAMA S., MATSUMOTO H., OYAMA K., MANNEN H., SASAZAKI S. (2015): The g.841G-C SNP of *FASN* gene is associated with fatty acid composition in beef cattle. *Animal Science Journal*, 86, s. 737-746.
- HOUAGA I., MUIGAI A.W.T., NG ANG A.F.M., IBEAGHA-AWEMU E.M., KYALLO M., YOUSAO I.A.K., STOMEIO F. (2018): Milk fatty acid variability and association with polymorphisms in *SCD1* and *DGAT1* genes in White Fulani and Borgou cattle breeds. *Molecular Biology Reports*, [Epub ahead of print].
- CHEBEL R.C., SUSCA F., SANTOS J.E. (2008): Leptin genotype is associated with lactation performance and health of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 91, s. 2893-2900.
- INOSTROZA K.B., SCHEUERMANN E.S., SEPULVEDA N.A. (2013): Stearoyl CoA desaturase and fatty acid synthase gene polymorphisms and milk fatty acid composition in Chilean Black Friesian cows. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 26, s. 263-269.
- KAUPE B., BRANDT H., PRINZENBERG E.M., ERHARDT G. (2007): Joint analysis of the influence of *CYP11B1* and *DGAT1* genetic variation on milk production, somatic cell score, conformation, reproduction and productive lifespan in German Holstein cattle. *Journal of Animal Science*, 85, s. 11-21.
- KIM Y.C., NTAMBI J.M. (1999): Regulation of stearyl-CoA desaturase genes: role in cellular metabolism and preadipocyte differentiation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 266, s. 1-4.
- KUHN C., THALLER G., WINTER A., BININDA-EDMONDS O.R.P., KAUPE B., ERHARDT G., BENNEWITZ J., SCHWERIN M., FRIES R. (2004): Evidence for multiple alleles at the *DGAT1* locus better explains a quantitative trait locus with major effect on milk fat content in cattle. *Genetics*, 167, s. 1873-1881.
- LI C., ALDAI N., VINSKY M., DUGAN M.E., MCALLISTER T.A. (2011): Association analyses of single nucleotide polymorphisms in bovine stearyl-CoA desaturase and fatty acid synthase genes with fatty acid composition in commercial cross-bred beef steers. *Animal Genetics*, 43, s. 93-97.
- LI C., SUN D., ZHANG S., YANG S., ALIM M.A., ZHANG Q., LI Y., LIN L. (2016): Genetic effects of *FASN*, *PPARGC1A*, *ABCG2* and *IFG1* revealing the association with wide fatty acids in a Chinese Holstein cattle population based on a post genome-wide association study. *BMC Genetics*, 17, s. 110-125.
- MARQUES E., GRANT J.R., WANG Z., KOLBEHDARI D., STOTHARD P., PLACHOW G., MOORE S. (2011): Identification of candidate markers on bovine chromosome 14 (BTA14) under milk production quantitative trait loci in Holsteins. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 128, s. 305-313.
- MATSUHASHI T., MARUYAMA S., UEMOTO Y., KOBAYASHI N., MANNEN H., ABE T., SAKAGUCHI S., KOBAYASHI E. (2011): Effects of bovine fatty acid synthase, stearyl-coenzyme A desaturase, sterol regulatory element-binding protein 1, and growth hormone gene polymorphisms on fatty acid composition and carcass traits in Japanese Black cattle. *Journal of Animal Science*, 89, s. 12-22.
- MILANESI E., NICOLOSO L., CREPALDI P. (2007): Stearoyl CoA desaturase (*SCD*) gene polymorphisms in Italian cattle breeds. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 125, s. 63-67.
- OGOREVC J., KUNEJ T., RAZPET A., DOVC P. (2009): Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. *Animal Genetics*, 40, s. 832-851.
- PANNIER L., MULLEN A.M., HAMILL R.M., STAPLETON P.C., SWEENEY T. (2010): Association analysis of single nucleotide polymorphisms in *DGAT1*, *TG* and *FABP4* genes and intramuscular fat in crossbred *Bos taurus* cattle. *Meat Science*, 85, s. 515-518.
- ROY R., ORDOVAS L., ZARAGOSA P., ROMERO A., MORENO C., ALTAR-RIBA J., RODELLAR C. (2006): Association of polymorphisms in the bovine *FASN* gene with the milk fat content. *Animal Genetics*, 37, s. 215-218.
- SILVA D.B., CRISPIM B.A., SILVA L.E., OLIVEIRA J.A., SIQUEIRA F., SENO L.O., GRISOLIA A.B. (2014): Genetic variations in the leptin gene associated with growth and carcass traits in Nellore cattle. *Genetics and Molecular Research*, 13, s. 3002-3012.
- SZYDA J., KOMISAREK J. (2007): Statistical modeling of candidate gene effects on milk production traits in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 90, s. 2971-2979.
- TRAKOVICKÁ A., MORAVČÍKOVÁ N., KASARDA R. (2013): Genetic polymorphisms of leptin and leptin receptor genes in relation with production and reproduction trait in cattle. *Acta Biochimica Polonica*, 60, s. 73-787.

**Kontaktní adresa:** doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.,  
Katedra potravinářských biotechnologií a kvality  
zemědělských produktů, Zemědělská fakulta,  
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,  
Studentská 809, 370 05 České Budějovice,  
Česká republika, e-mail: samkova@zf.jcu.cz

Přijato do tisku: 23. 9. 2018

Lektorováno: 10. 10. 2018