

Mezinárodní odborný seminář Využití chovatelských dat onemocnění skotu pro management stád, šlechtění a pro racionální užívání antimikrobik.



Genotypování markerů užitkovosti a zdraví u skotu

Jitka Kysel'ová

Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha - Uhřetěves

Oddělení genetiky a šlechtění - Laboratoř molekulární genetiky

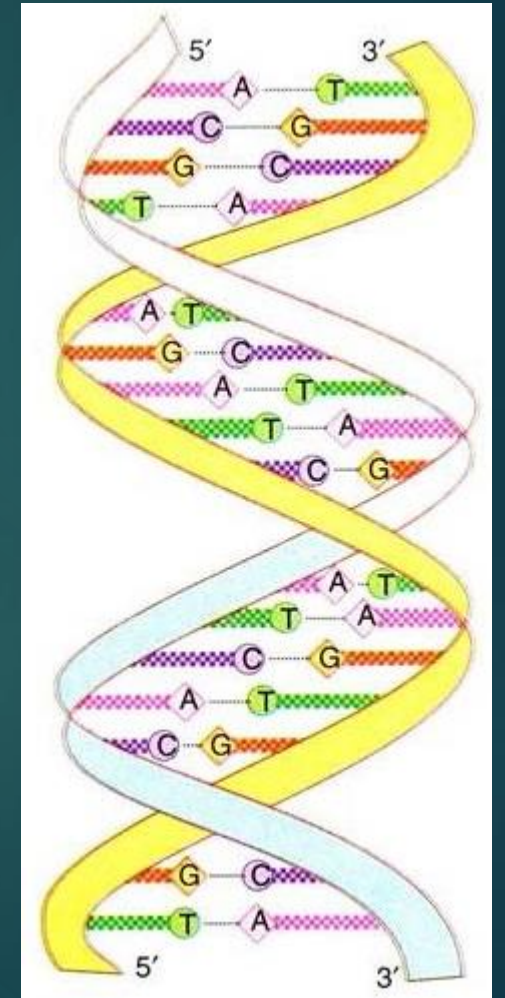
14. Zář 2016

Program prezentace

- ✓ Molekulární genetik
- ✓ Dědičná informace u skotu
- ✓ Metody molekulární genetiky
- ✓ Genotypování vybraných markerů
- ✓ Závěr

Molekulární genetik

- ✓ Struktura, funkce makromolekul které jsou nositeli GI
- ✓ DNA → GEN → CHROMOZÓM → GENOM
- ✓ Centrální dogma DNA → RNA → protein
- ✓ Komplementarita dvou vláken DNA, genetický kód = uchování a přenos genetické informace
- ✓ Genetická exprese ontogeneticky a tkáňově specifická
- ✓ Epigenetika
- ✓ Význam ve šlechtění HZ



Dědičná informace skotu

- ✓ 30 párů chromozómů
- ✓ 2009 – přečten genom skotu (Cattle Genome Sequencing International Consortium)
- ✓ GenBank veřejně přístupná databáze všech sekvencí DNA
NCBI (Bethesda, Maryland, USA)
www.ncbi.nih.gov
- ✓ Referenční genom RefSeq Hereford kráva Domirette L1 014490
- ✓ Poslední 105. anotace verze Bos taurus Btau 5.0.1. ze dne 19.11.2015
- ✓ celková délka – 2 724 980 740 bp (19x pokrytí)
- ✓ proteiny – 39 053



Dědičná informace skotu

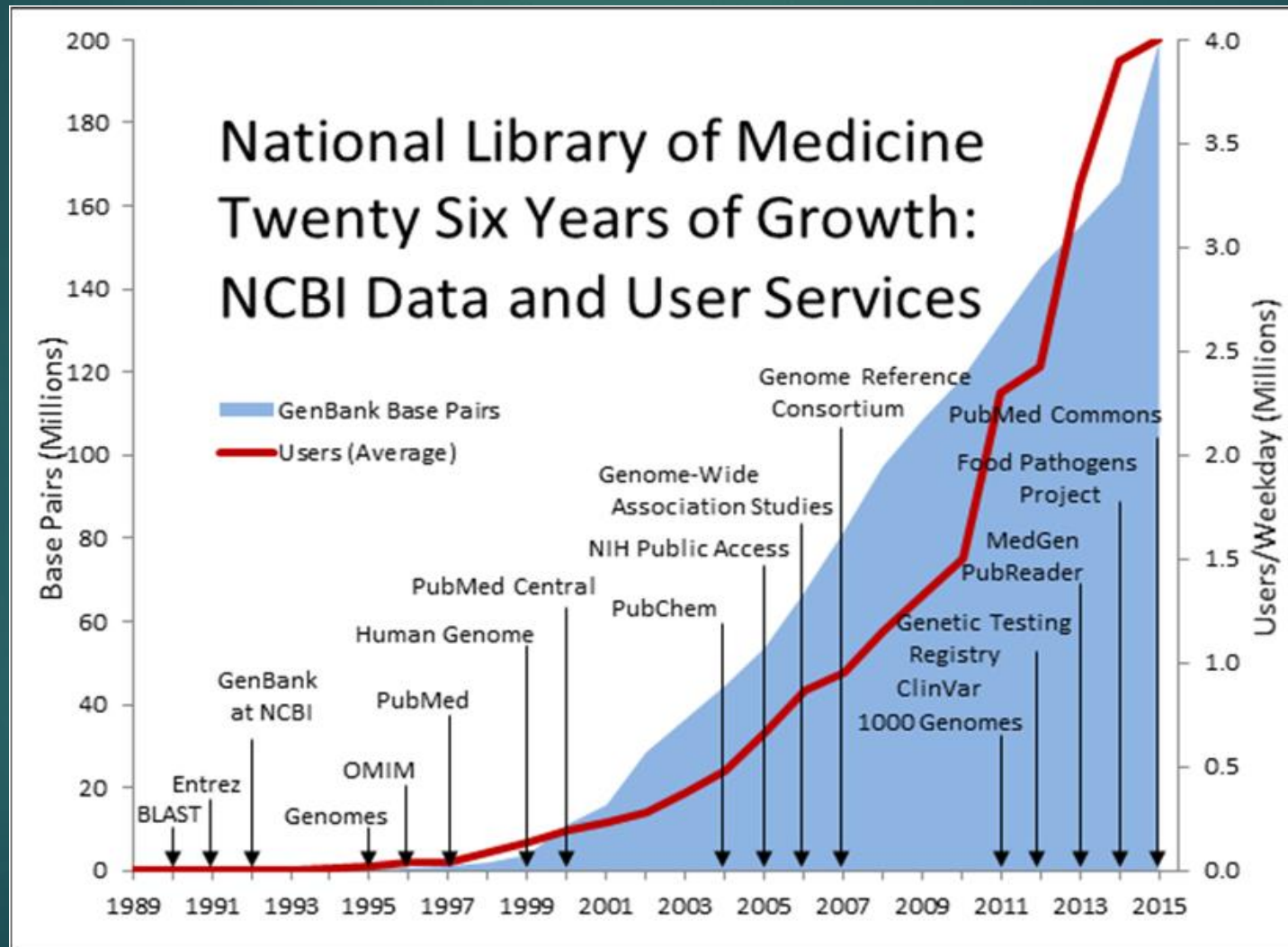
Statistika projektu RefSeq Genome

	Geny	Anotované geny	SNP	dbSNP
<i>skot</i>	53 990	31 414	99 714 790	22 615
ovce	40 032	38 909	83 086 998	18 008
koza	29 732	29 444	54 581 810	18 363
člověk	60 208	55 144	164 994 041	28 107
myš	68 659	46 162	80 689 348	32 456

Komerční celogenomové čipy

Organismus	Počet SNPs
<i>skot</i>	750 000
ovce	56 000
prase	60 000
kůň	55 000
slepice	600 000
pes	250 000
člověk	3 000 000

Dědičná informace skotu



Search NCBI databases

[Help](#)

bos taurus

Results found in 35 databases for "bos taurus"

Literature

Books	1,812	books and reports
MeSH	112	ontology used for PubMed indexing
NLM Catalog	1,555	books, journals and more in the NLM Collections
PubMed	330,623	scientific & medical abstracts/citations
PubMed Central	87,977	full-text journal articles

Health

ClinVar	1	human variations of clinical significance
dbGaP	7	genotype/phenotype interaction studies
GTR	0	genetic testing registry
MedGen	4	medical genetics literature and links
OMIM	5	online mendelian inheritance in man
PubMed Health	49	clinical effectiveness, disease and drug reports

Genomes

Assembly	14	genome assembly information
BioProject	709	biological projects providing data to NCBI
BioSample	27,888	descriptions of biological source materials
Clone	367,193	genomic and cDNA clones
dbVar	10,478	genome structural variation studies
Genome	1	genome sequencing projects by organism
GSS	532,064	genome survey sequences
Nucleotide	406,468	DNA and RNA sequences
Probe	116,306	sequence-based probes and primers
SNP	99,714,790	short genetic variations
SRA	13,281	high-throughput DNA and RNA sequence read archive
Taxonomy	1	taxonomic classification and nomenclature catalog

Genes

EST	1,637,376	expressed sequence tag sequences
Gene	141,814	collected information about gene loci
GEO DataSets	91,172	functional genomics studies
GEO Profiles	211,919	gene expression and molecular abundance profiles
HomoloGene	17,530	homologous gene sets for selected organisms
PopSet	813	sequence sets from phylogenetic and population studies
UniGene	27,095	clusters of expressed transcripts

Proteins

Conserved Domains	3	conserved protein domains
Protein	1,576,692	protein sequences
Protein Clusters	12	sequence similarity-based protein clusters
Structure	2,548	experimentally-determined biomolecular structures

Chemicals

BioSystems	19,727	molecular pathways with links to genes, proteins and chemicals
PubChem BioAssay	6,951	bioactivity screening studies
PubChem Compound	0	chemical information with structures, information and links
PubChem Substance	0	deposited substance and chemical information

Gene

Gene

bos taurus

Search

Create RSS Create alert Advanced

Gene sources

- Genomic
- Mitochondria
- Organelles
- Plasmids

Categories

- Alternatively spliced
- Annotated genes
- Non-coding
- Protein-coding
- Pseudogene

Sequence content

- CCDS
- Ensembl
- RefSeq
- RefSeqGene

Status

Current

Chromosome locations
more...

[Clear all](#)

[Show additional filters](#)

Tabular 20 per page Sort by Relevance

Send to

Search results

Items: 1 to 20 of 56005

<< First < Prev Page 1 of 2801 Next > Last >>

See also 85809 discontinued or replaced items.

Name/Gene ID	Description	Location	Aliases
<input type="checkbox"/> SSPO ID: 282659	SCO-spondin [<i>Bos taurus</i> (cattle)]	Chromosome 4, AC_000161.1 (113437224..113490745)	
<input type="checkbox"/> RHO ID: 509933	rhodopsin [<i>Bos taurus</i> (cattle)]	Chromosome 22, AC_000179.1 (56867887..56872817, complement)	
<input type="checkbox"/> NOS3 ID: 287024	nitric oxide synthase 3 [<i>Bos taurus</i> (cattle)]	Chromosome 4, AC_000161.1 (114375967..114394483)	
<input type="checkbox"/> LTF ID: 280846	lactotransferrin [<i>Bos taurus</i> (cattle)]	Chromosome 22, AC_000179.1 (53521660..53556090)	Lf
<input type="checkbox"/> PRNP ID: 281427	prion protein [<i>Bos taurus</i> (cattle)]	Chromosome 13, AC_000170.1 (47400392..47418507)	AltPrP, PrP
<input type="checkbox"/> ALB ID: 280717	albumin [<i>Bos taurus</i> (cattle)]	Chromosome 6, AC_000163.1 (90232762..90251122)	
<input type="checkbox"/> GH1 ID: 280804	growth hormone 1 [<i>Bos taurus</i> (cattle)]	Chromosome 19, AC_000176.1 (48768617..48772049, complement)	GH
<input type="checkbox"/> IGF1 ID: 281239	insulin like growth factor 1 [<i>Bos taurus</i> (cattle)]	Chromosome 5, AC_000162.1 (66523798..66604781, complement)	IGF-1, IGF-I
<input type="checkbox"/> RNASE1 ID: 282340	ribonuclease, RNase A family, 1 (pancreatic) [<i>Bos taurus</i> (cattle)]	Chromosome 10, AC_000167.1 (26388180..26389763)	RNS1
<input type="checkbox"/> PAEP ID: 280838	progestagen-associated endometrial protein [<i>Bos taurus</i> (cattle)]	Chromosome 11, AC_000168.1 (103301488..103306381)	BLG, LGB
<input type="checkbox"/> INS ID: 280829	insulin [<i>Bos taurus</i> (cattle)]	Chromosome 29, AC_000186.1 (50035655..50037262)	
<input type="checkbox"/> LEP ID: 280836	leptin [<i>Bos taurus</i> (cattle)]	Chromosome 4, AC_000161.1 (93249803..93266625)	ob
<input type="checkbox"/> CSN2 ID: 281099	casein beta [<i>Bos taurus</i> (cattle)]	Chromosome 6, AC_000163.1 (87179499..87188191, complement)	
<input type="checkbox"/> TNF ID: 280943	tumor necrosis factor [<i>Bos taurus</i> (cattle)]	Chromosome 23, AC_000180.1 (27533899..27537807, complement)	TNF-a, TNF-alpha, TNFa

clear

Metody molekulární genetiky v laboratoři VÚŽV

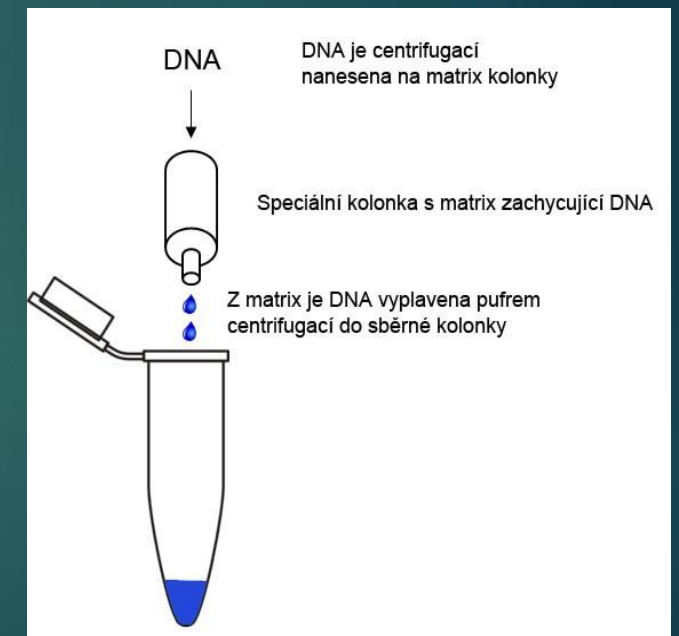
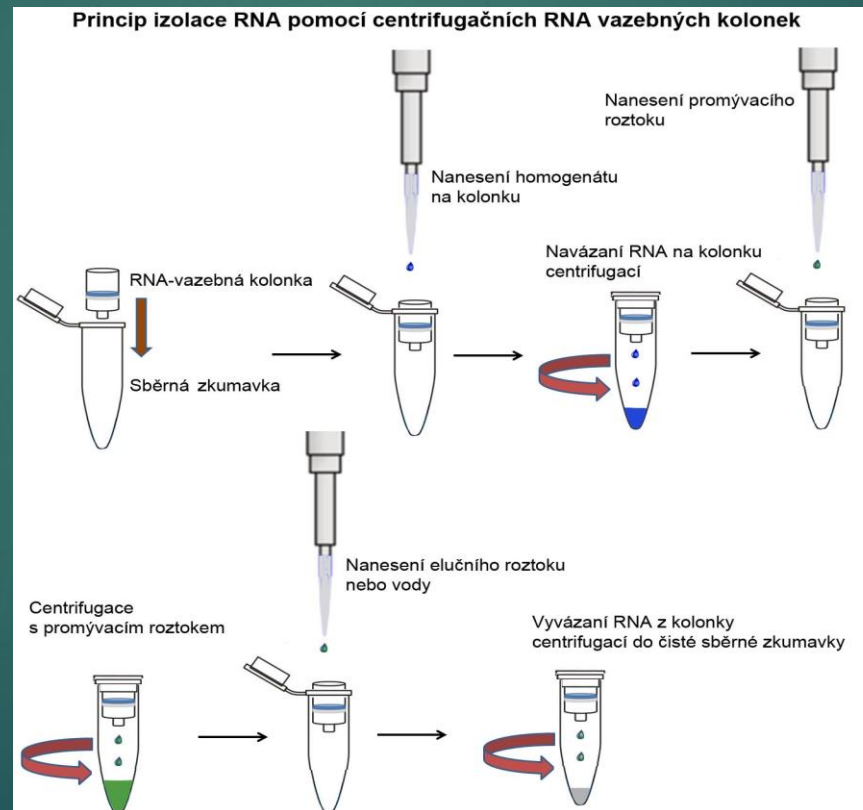
- ✓ Izolace DNA (RNA)
- ✓ Amplifikace DNA pomocí PCR
- ✓ RFLP – identifikace polymorfizmů
- ✓ Sekvenování genů
- ✓ Genová exprese mRNA
- ✓ Genotypování pomocí značených sond

Izolace DNA (RNA)

Tkáně

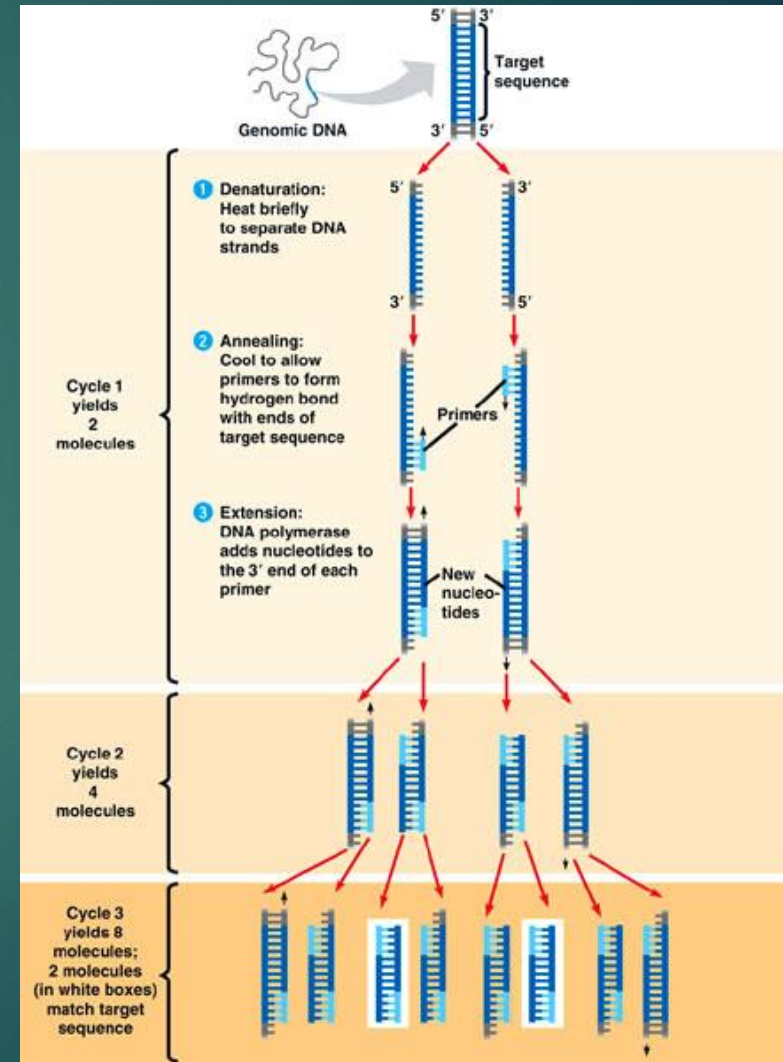
- ✓ Krev
- ✓ Maso
- ✓ Tuk
- ✓ Bukální stěry
- ✓ Peří
- ✓ Chlupy

Princip



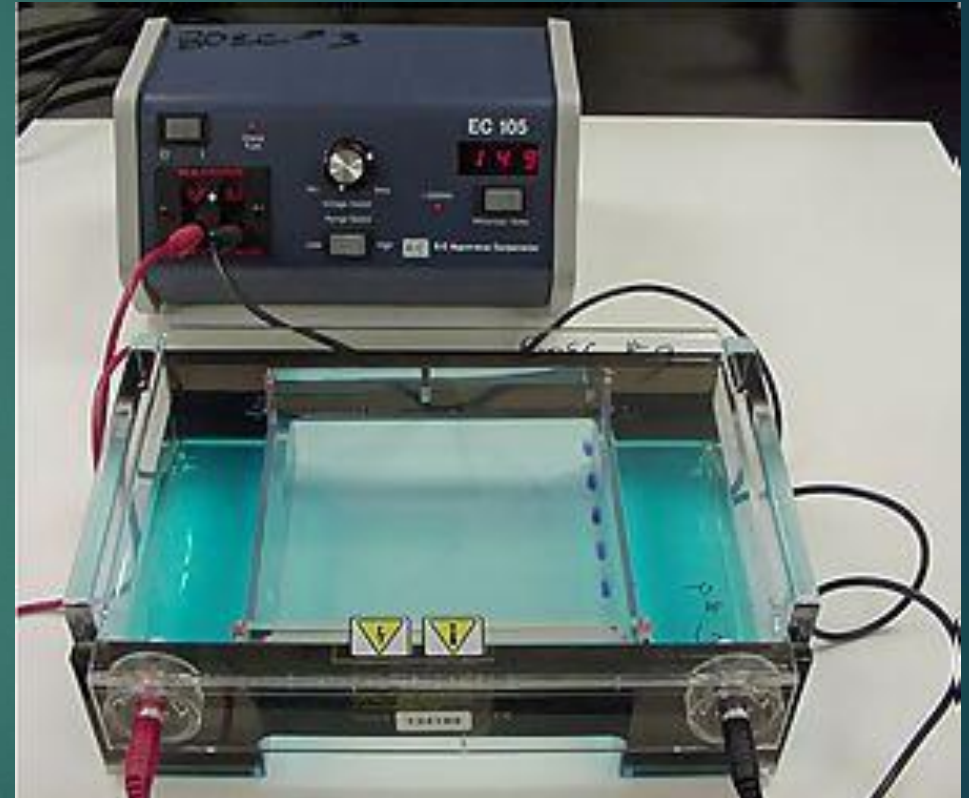
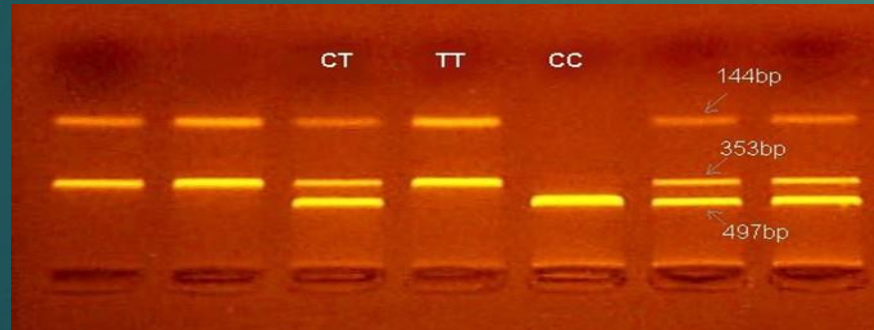
Polymerázová řetězová reakce (PCR)

- ✓ Amplifikace úseku DNA in vitro na měřitelné množství (ng, μg)
- ✓ 1983 Kerry Mullis
- ✓ 1993 Nobelova cena za chemii
- ✓ Programovatelné termocykléry
- ✓ Rekombinantní Taq polymeráza
- ✓ RT-PCR



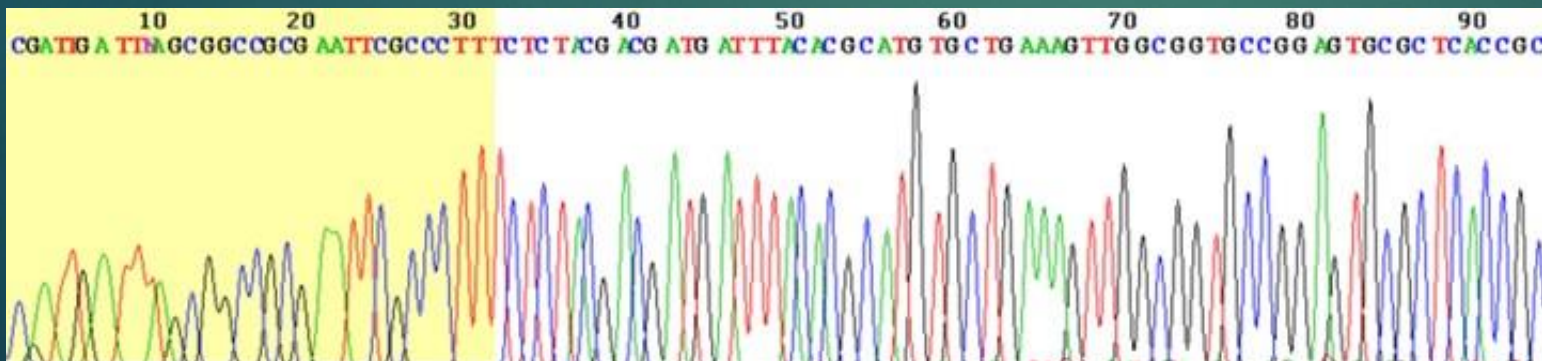
Polymorfismus restričních fragmentů (RFLP)

- ✓ Specifita restričních enzymů
- ✓ Délkové rozdíly štěpených fragmentů
- ✓ Rozlišení alel
- ✓ Elektroforéza



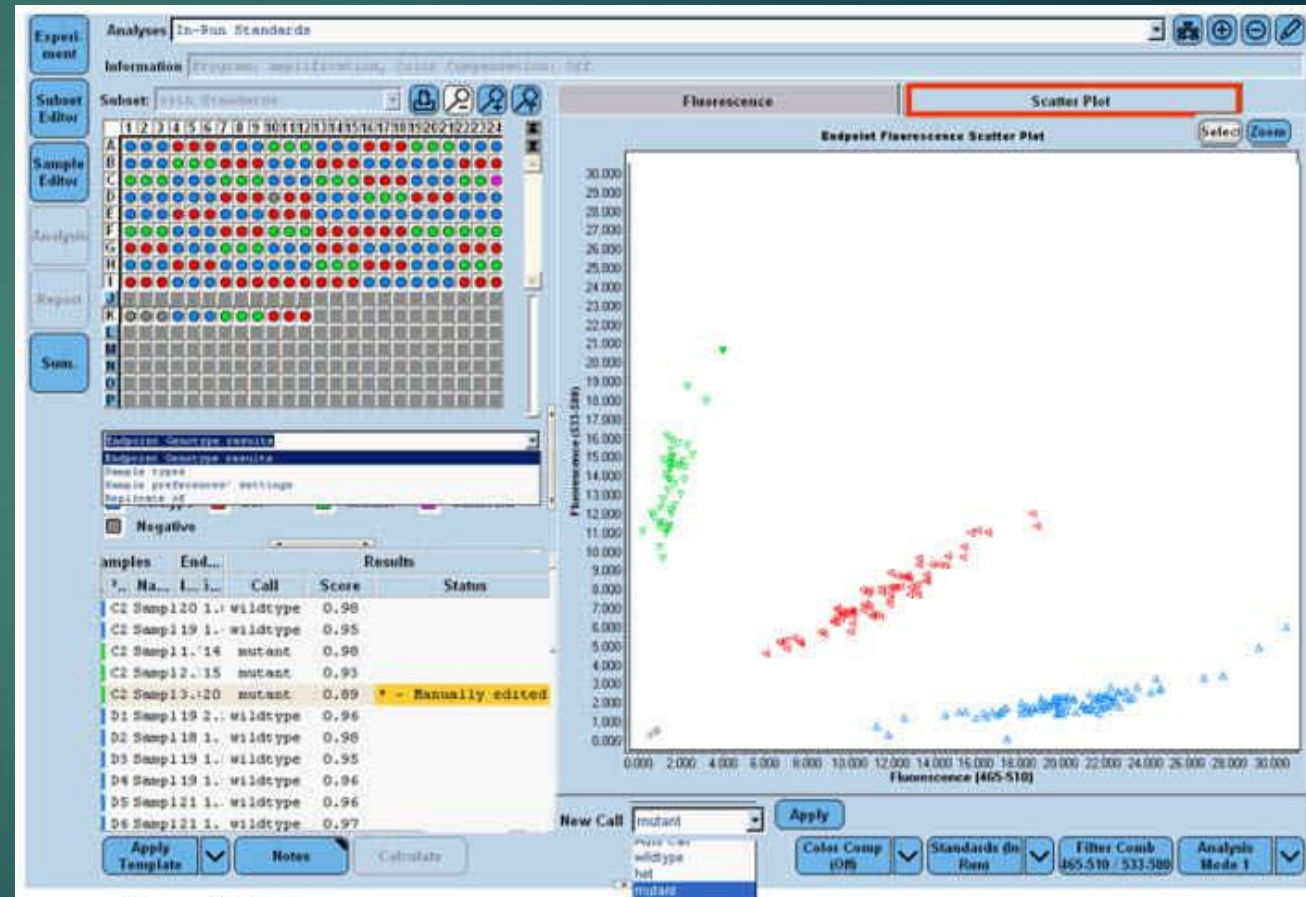
Sekvenování genů

- ✓ Zjištění primární sekvence úseku DNA
- ✓ Je založena na PCR a používá fluorescenčně značené ddNTP
- ✓ Kapilární elektroforéza v automatickém DNA analyzáru



Genotypování pomocí značených sond

- ✓ Hybridizace s fluorescenčně značenými sondami
- ✓ Sonda je uměle nasyntetizovaný úsek DNA, který použijeme k vyhledávání určité sekvence ve vzorku testované DNA
- ✓ V průběhu RT-PCR fluorescence narůstá, signál je snímán a detekován
- ✓ FRET sondy, TaqMan sondy



Genotypování vybraných markerů

Kandidátní gen

- ✓ Je součástí metabolických drah, vedoucích k manifestaci studovaného znaku
- ✓ Znalost funkce genu
- ✓ Úloha genu při vývoji dané vlastnosti
- ✓ Znalost vlivu genu na fenotyp jiných druhů
- ✓ Exprese genu v dané tkáni a to i během vývoje (sval, tuk)
- ✓ Gen se nachází v blízkosti QTL pro danou vlastnost (poziční KG)

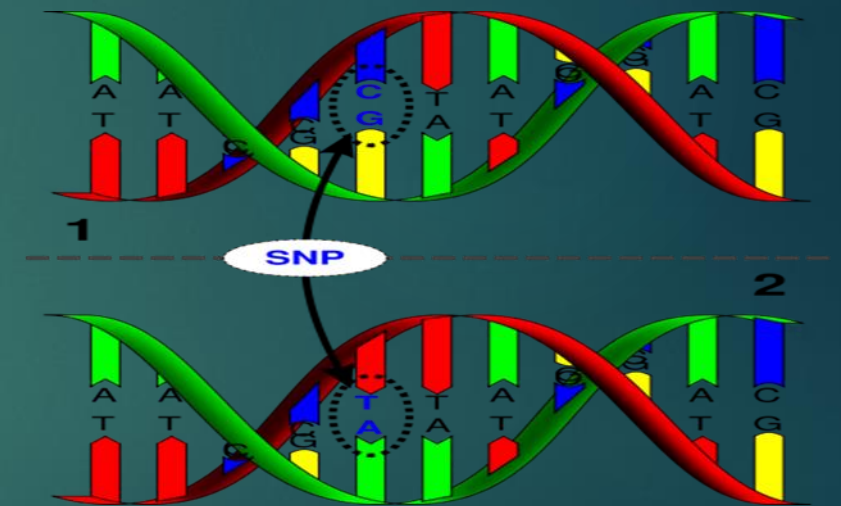
Genotypování vybraných markerů

Genetický marker

- ✓ Měřitelná variace DNA sekvence v populaci
- ✓ Molekulární markery často nemají žádný biologický efekt
- ✓ Identifikovatelné DNA sekvence se specifickou lokalizací v genomu
- ✓ MAS, QTL

Běžné typy genetických markerů („polymorfismus“)

- ✓ Mikrosatelity
- ✓ INDEls
- ✓ CNV
- ✓ SNP nejmenší nedělitelná jednotka genetického materiálu (A:T nebo C:G)



Genotypování vybraných markerů

- ✓ Český strakatý skot
- ✓ Testování statistické významnosti lokusů s přímým vztahem k parametrům užitkovosti (mléčná užitkovost, kvalita mléka, složení a zastoupení mastných kyselin v mase a tuku)
- ✓ Mléčné bílkoviny
Laboratoř MG: Služba chovatelům
- ✓

α S1 kasein	alely B, C
β kasein	alely A1, A2, A3, B
κ kasein	alely A, B, E
β laktoglobulin	alely A, B

Genotypování vybraných markerů

Asociační studie polymorfismu KG český strakatý skot

κ-kasein

- Vliv na parametry kvality mléka a syřitelnosti, obsah bílkovin, kaseinu, kvalitu a pevnost sýřeniny
- PH pro obsah a produkci bílkovin
- Příznivý vliv genotyp BB oproti EE

β-laktoglobulin

- PH pro obsah syrovátkových bílkovin a kaseinu

β-kasein

- Vliv na obsah kaseinu v mléce
- Vztah genotypu k PH pro produkci mléka, bílkovin a tuku
- Příznivý vliv A1A2 a A1A1

Genotypování vybraných markerů

Asociační studie polymorfismu KG český strakatý skot

Dojený skot

- 505 krav po 64 otcích ve 4 stádech

Hodnocené parametry mléčné užitkovosti

- Produkce mléka, tuku a proteinu, % tuku a proteinu
- PH pro dojivost, produkci tuku a proteinu

Hodnocené parametry plodnosti

- Inseminační interval
- Servis perioda
- Mezidobí
- Inseminační index

Genotypování vybraných markerů

PPARGC1A

peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, coactivator 1, Alpha

Fyziologické účinky

- klíčový faktor energetického metabolismu a energetické rovnováhy a s tím související přežitelnosti (délky života jedince)
- reguluje metabolismus triglyceridů v tukové tkáni a intramuskulárním tuku
- klíčový modulátor glukoneogeneze v játrech
- metabolismus mléčné žlázy, tvorba mléčného tuku

Prokázané efekty genetického polymorfismu

- produkce mléčného tuku, % tuku, produkce ml. proteinu
- PH produkce mléčného tuku, % tuku, produkce proteinu a % proteinu

Genotypování vybraných markerů

CYP11B1

cytochrome P450, subfamily XI B, polypeptide 1; steroid 11-betahydroxylase

Fyziologické účinky

- podílí se na produkci hormonu kortizolu
- má protizánětlivý a imunosupresivní účinek
- ovlivňuje CNS a reakci na stres,
- hormonem lipolýzy a lipogeneze, glukoneogeneze a glykogeneze
- podílí se na metabolismu bílkovin

Prokázané efekty genetického polymorfismu

- % tuku
- PH produkce mléka, % tuku, produkce a % proteinu

Genotypování vybraných markerů

DGAT1

diacylglycerol acyltransferase 1

Fyziologické účinky

- katalyzuje syntézu triglyceridů
- mechanismus laktace a tvorba tukové tkáně, mléčného a intramuskulárního tuku

Prokázané efekty genetického polymorfismu

- PH pro % bílkovin a pro % tuku
- Vliv na servis periodu, mezidobí, inseminační index

Genotypování vybraných markerů

BTN1A1

buthyofilin

Fyziologické účinky

- enzym pro sekreci mléčných lipidů a tvorba micel MT

Prokázané efekty genetického polymorfismu

- PH produkce bílkovin, % bílkovin a tuku
- service perioda a mezidobí

Genotypování vybraných markerů

Asociační studie polymorfismu KG český strakatý skot

Masný skot

- 679 býků plemene C od 112 otců

Hodnocené parametry

- chemické analýzy obsahu a složení MK ve vnitrosvalovém a podkožním tuku

Genotypování vybraných markerů

FASN

syntetáza mastných kyselin

Fyziologické účinky

- klíčový enzym syntézy mastných kyselin de novo v mléce a mase
- složení mastných kyselin v mase

Prokázané efekty genetického polymorfismu

- asociace s obsahem intramuskulárního tuku a specifickým profilem mastných kyselin ve svalech a podkožním tuku

Genotypování vybraných markerů

SCD1

Stearoyl-CoA desaturase

Fyziologické účinky

- ovlivňuje složení mastných kyselin a cholestereolu v membránách buněk
- klíčový enzym syntézy konjugované linolenové kyseliny (CLA)
- CLA nachází se v mléce a tuku přežvykavců - prospěšná lidskému zdraví

Prokázané efekty genetického polymorfismu

- asociace s obsahem intramuskulárního tuku a specifickým profilem mastných kyselin ve svalech a podkožním tuku



Děkují za pozornost