

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Živočišné biotechnologie

Katedra: Zootechnických a veterinárních disciplín a kvality produktů

Vedoucí katedry: doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Polymorfismus *FGF2* v asociaci k mléčné užitkovosti a reprodukci skotu

Vedoucí diplomové práce: Ing. *et* Ing. Božena Hosnedlová, Ph.D.

Konzultant diplomové práce: Ing. Kateřina Vernerová

Autor diplomové práce: Bc. Michaela Hercoková

České Budějovice, 2014

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta zemědělská

Akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Michaela HERCOKOVÁ**
Osobní číslo: **Z12722**
Studijní program: **N4101 Zemědělské inženýrství**
Studijní obor: **Živočišné biotechnologie**
Název tématu: **Polymorfismus FGF2 v asociaci k mléčné užitkovosti a reprodukci skotu**
Zadávací katedra: **Katedra zootechnických a veterinárních disciplín a kvality produktů**

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

Během posledního desetiletí narůstá zájem o využití genomických informací ve šlechtitelských programech dojnic. Odhad plemenných hodnot plemenných býků je v České republice v současné době prováděn analýzou fenotypové užitkovosti zvířat. Ta však nemusí být vždy zaznamatelná, např. z důvodu absence laktace u býků, dlouhého generačního intervalu atp. V souvislosti s dynamickým rozvojem odhalování variability v DNA se jeví jako slibná identifikace genových polymorfizmů, které by mohly být asociovány s ekonomicky důležitými užitkovými vlastnostmi. Gen fibroblastového růstového faktoru 2 (FGF2) reguluje trofektodermální expresi interferonu τ u přežvýkavců, proto je považován za kandidátní gen pro fertilitu; publikován byl i jeho vztah k mléčné užitkovosti. Nicméně vědeckých studií zabývajících se tímto genem není mnoho. Cílem diplomové práce je tedy navázat na dosavadní vědecké práce zabývajících se zkoumáním vztahu polymorfizmu genu FGF2 k uvedeným užitkovým znakům.

V literární rešerši shrňte dosavadní poznatky o genu FGF2 ze současných, zejména zahraničních publikací. Vyizolujte DNA z krve, resp. spermatu plemenných býků a vzorky DNA po amplifikaci genotypizujte metodou RFLP. Příslušné genotypy vyhodnoťte vhodnou statistickou metodou ve vztahu k plemenným hodnotám býků získaných z databáze Plemdat. Zhodnoťte výsledek asociací studie v kontextu s dosavadními recenzovanými publikacemi a vyvoďte potenciální možnost uplatnění zkoumaného polymorfizmu ve šlechtění.


Rozsah grafických prací: dle požadavků vedoucího práce
Rozsah pracovní zprávy: 60 stran
Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická
Seznam odborné literatury:

Oikonomou G., Michailidis G., Kougioumtzis A., Avdi M., Banos G., 2011. Effect of polymorphisms at the STAT5A and FGF2 gene loci on reproduction, milk yield and lameness of Holstein cows. *Research in Veterinary Science*, 91: 235-239.
Munoz M., Rodriguez A., Diez C., Caamano J.N., Fernandez-sanchez M.T., Perez-Gomez A., De Frutos C., Facal N., Gomez E., 2009. Tyrosine kinase A, C and fibroblast growth factor-2 receptors in bovine embryos cultured in vitro. *Biological Abstracts Theriogenology*, 71(6): 1005-1010.
Wang X., Maltecca C., Tal-Stein R., Lipkin E., Khatib H., 2008. Association of bovine fibroblast growth factor 2 (FGF2) gene with milk fat and productive life: an example of the ability of the candidate pathway strategy to identify quantitative trait genes. *Journal of Dairy Science*, 91: 2475-2480.

Vedoucí diplomové práce: Ing. et Ing. Božena Hosnedlová, Ph.D.
Katedra zootechnických a veterinárních disciplín a kvality produktů
Konzultant diplomové práce: Ing. Kateřina Vernerová
Katedra zootechnických a veterinárních disciplín a kvality produktů
Datum zadání diplomové práce: 28. března 2014
Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2015


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

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ ŠKOLA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice


doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 28. března 2014

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 veškerých částí práce obsahujících výsledky výzkumu 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 25.4.2014


.....

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí mé diplomové práce Ing. *et* Ing Boženě Hosnedlové, Ph.D. za odborné rady a doporučení při psaní této práce a Ing. Kateřině Vernerové za odborné vedení v praktické části práce.

Abstrakt

Tato práce pojednává o vlivu polymorfizmu *FGF2* genu na mléčnou užitkovost a plodnost holštýnského plemene skotu. Literární rešerše se zabývá jeho užitkovostí a upozorňuje na současný problém týkající se klesající plodnosti vysoko užitkových plemen mléčného skotu. Druhá polovina literární rešerše je věnována *FGF* rodině, její charakteristice a spojitosti s mléčnou užitkovostí skotu. *FGF2* gen byl pro tuto studii vybrán proto, že je členem dráhy placentárního laktogenu a interferonu- τ , je tedy zahrnut do zahájení a udržování březosti přežvýkavců a je předpokládán jeho vliv na mléčnou užitkovost. Experimentální část práce se zabývá genotypizací 150 býků holštýnského plemene. Genotypizace byla provedena pomocí PCR-RFLP metody a získaná data byla následně statisticky vyhodnocena. Nebyla nalezena žádná statisticky významná spojitost polymorfizmu *FGF2* k mléčné produkci holštýnského plemene. Bylo však zjištěno, že polymorfizmus *FGF2* genu má statisticky průkazný vliv na plodnost krav a plemenic holštýnského plemene linie NXA. Tento vliv ovšem nebyl statisticky průkazný u jalovic obou linií a plemenic u linie NEA. SNP11646 polymorfizmus *FGF2* genu by mohl být využitelný jako kritérium v gen asistované selekci pro zvýšení plodnosti dojeného skotu holštýnského plemene, avšak před jeho zavedením jakožto selekčního kritéria v šlechtitelském programu je potřeba dalšího navazujícího výzkumu.

Klíčová slova: *FGF2* gen; polymorfizmus; mléčná užitkovost; plodnost; genotypizace

Abstract

The objective of this study is to investigate the effect of polymorphism of the *FGF2* gene locus at the milk yield and fertility of Holstein cows. Review contains information about milk yield and reproductive performance of Holstein cows and point out the problem with decreasing fertility of high-producing dairy cows. The second part of review contains information about FGF family, its characterization and its effect of production traits and reproductive traits in Holstein cows. *FGF2* was chosen for this study because it is a member of the placental lactogen pathway and interferon- τ and which means that, *FGF2* is included in initiation and maintaining of pregnancy in ruminants and therefore is possible to expect an effect on *FGF2* on the milk traits and reproductive traits of cattle. The experimental part of the work deals with the genotyping of 150 bulls of Holstein breed. Genotyping was performed by PCR-RFLP method. Data was obtained and statistically evaluated. No significant effect of SNP11464 *FGF2* polymorphism was found with association to milk production of Holstein breed. However, a significant effect of SNP11464 was found in regards to fertility with association to fertility of cows and breeding cattle of the Holstein breed line NXA. This effect was not significant in heifers of both lines and fertility of cows and breeding cows in line NEA. SNP11646 *FGF2* gene might be useful as a criterion in gene-assisted selection to increase the fertility of Holstein dairy cows but prior to its introduction as a selection criteria in the breeding programme a further investigation of possible effect on fertility is necessary.

Key words: *FGF2* gene; polymorphism; milk yield; fertility; genotyping

OBSAH

1	ÚVOD	11
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED	13
2.1	Mléčná užitkovost	13
2.2	Plodnost.....	16
2.3	Genomika ve šlechtitelském programu dojeného skotu	18
2.4	Rodina fibroblastových růstových faktorů.....	20
2.4.1.	Charakteristika rodiny fibroblastových růstových faktorů	20
2.4.2	FGFR (Receptory fibroblastových růstových faktorů).....	22
2.4.3	FGF1 podrodina	25
2.4.4	FGF4 podrodina	30
2.4.4.1	Fibroblastový růstový faktor 4 (FGF4).....	30
2.4.5	FGF7 podrodina	31
2.4.5.1	Fibroblastový růstový faktor 3 (FGF3).....	32
2.4.6	FGF8 podrodina	33
2.4.6.1	Fibroblastový růstový faktor 8 (FGF8).....	33
2.4.7	FGF9 podrodina	34
2.4.7.1	Fibroblastový růstový faktor 9 (FGF9).....	34
2.4.8	FGF19 podrodina	35
2.4.8.1	Fibroblastový růstový faktor 15/19 (FGF15/19).....	35
2.4.8.2	Fibroblastový růstový faktor 21 (FGF21).....	36
2.4.9.	Fibroblastový růstový faktor 11, 12, 13, 14.....	37
2.4.9.1.	Fibroblastový růstový faktor 13 (FGF13).....	37
2.5.	FGF signalizace	38
2.6.	Interferon- τ	39
2.5	Metody	39
2.5.1	Izolace genomové DNA.....	39
2.6	PCR	40
2.7	Elektroforéza.....	43
2.8	PCR-RFLP	43
3	CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE	45
4	ZÁVĚR	46
5	PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY	47

6	SEZNAM ZKRATEK	70
7	SEZNAM TABULEK	71
8	SEZNAM OBRÁZKŮ	71

1 ÚVOD

V současné době dochází k velmi intenzivnímu šlechtění dojeného skotu za účelem zvýšení produkce mléka. Vyšší mléčná užitkovost je dosahována intenzivní selekcí a podporována lepším managementem a zajištěním kvalitní výživy. Pro realizaci intenzivní selekce je nutné získat představu o plemenné hodnotě konkrétních jedinců, jejich příbuzenstva a potomků. Tento proces je tedy velmi zdoluhavý, a tak se nabízí možnost využít metod molekulární genetiky za účelem detekce variability v DNA již v raném věku zvířat. V plemenitbě by se pak využívali pouze býci, jejichž předpoklad užitkovosti by byl prověřen již v mladém věku.

V procesu šlechtění dojených plemen skotu, zejména plemene holštýnského, dochází již celou řadu let k významnému propojování genofondů jeho jednotlivých subpopulací, chovaných v různých zemích. Genetický výzkum v oblasti molekulární genetiky i v oblasti statistických metod kvantitativní genetiky přináší další nové poznatky. Přibývá mnoho studií věnovaných problematice nových principů selekce, kdy je s využitím informací o jednoduše dědičných znacích začleňováno do selekčního programu selekční kritérium - marker. Markery asistovaná selekce (MAS; Marker Assisted Selection) je založena na složeném indexu, který zahrnuje jak účinek polygenů selektované užitkové vlastnosti, tak i efekt příslušného jednoduše dědičného markeru. Metodicky jde v podstatě o stanovení efektu markerů ve vazbě s lokusy kvantitativních vlastností (QTL; Quantitative Trait Loci), vyjádřenými zpravidla příslušnou plemennou hodnotou, dnes nejčastěji odhadovanou Animal modelem (Urban *et al.*, 1997). Pokročilejší metoda - genomická selekce (GS; Genomic Selection) se využívá ke stanovení jednonukleotidových polymorfizmů (SNP; Single Nucleotide Polymorphism). Pomocí mikročipů, které jsou schopny detekovat nukleotidové změny v celém genomu. Na základě toho lze odhadnout budoucí užitkové založení jedince.

Intenzivní šlechtění holštýnského plemene skotu na vysokou produkci mléka však přineslo i negativní důsledky, a to snížení plodnosti. Jedná se o celosvětový problém a bylo prokázáno, že má přímou souvislost s vysokou produkcí mléka. Z tohoto důvodu je zapotřebí zahrnovat rovněž plodnost skotu do selekčních kritérií.

Gen fibroblastového růstového faktoru 2 (*FGF2*; Fibroblast Growth Factor 2) reguluje expresi interferonu- τ , který je klíčovým členem signální transdukční dráhy zahrnuté v produkci mléka (Wang *et al.*, 2008) a cílem této diplomové práce je právě hledání asociace polymorfizmu tohoto genu k mléčné užitkovosti a plodnosti u holštýnského plemene skotu.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Mléčná užitkovost

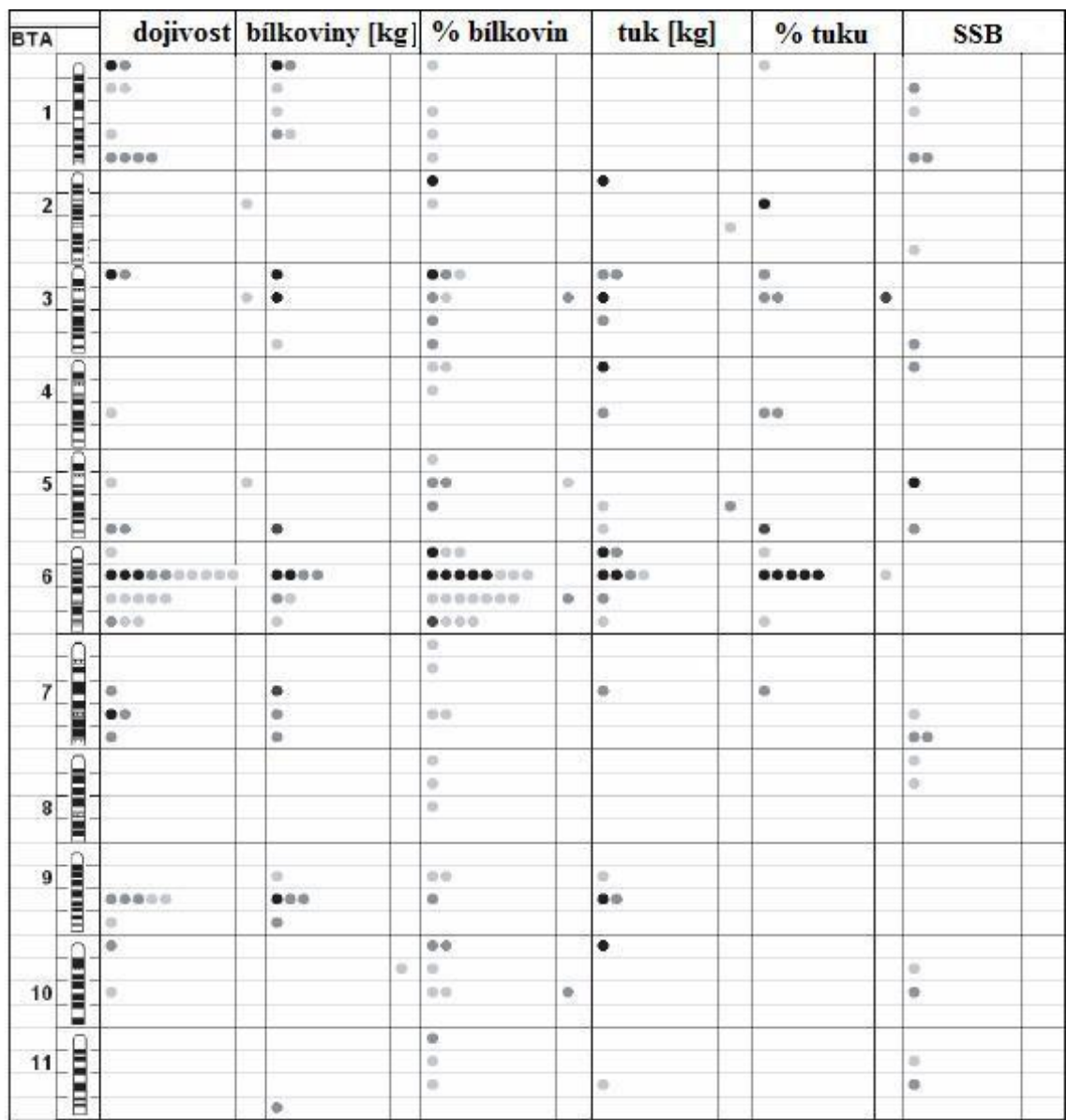
Dojivost je velmi komplexní fyziologická vlastnost, která je závislá na stupni vývoje a činnosti nejen všech hlavních tělních orgánů, zejména soustavy krevního oběhu, trávicí a dýchací soustavy, ale i na činnosti nervového systému a v neposlední řadě také na žlázách s vnitřní sekrecí, především žlázách pohlavních. Vlastní funkci mléčné žlázy je možné do určité míry chápat jako velmi složitý proces, při kterém dochází k systematické přeměně bílkovin, tuků a glycidů přijímaných potravou na mléčný albumin, kasein, mléčný tuk a mléčný cukr. Činnost mléčné žlázy je závislá jak na genetických dispozicích, tak na hormonálních vlivech (Urban, 1997).

Koeficient dědivosti (h^2) pro index perzistence laktace (podíl množství mléka za druhých 100 dnů k prvním 100 dnům laktace, P 2:1) je zpravidla nízký, byl odhadnut v rozmezí $h^2=0,09-0,18$ (Dobson *et al.*, 2007; Dekkers *et al.*, 1998; Haile–Mariam *et al.*, 2003; Muir *et al.*, 2004). Rozsah hodnot koeficientu dědivosti pro produkci mléka se u různých plemen pohybuje v rozmezí 0,25–0,35. Vyšší hodnoty h^2 v rozmezí 0,40–0,60 byly zjištěny u procentuálního obsahu mléčných komponent (Urban, 1997). Koeficient dědivosti pro obsah bílkovin bývá zpravidla vyšší než koeficient dědivosti pro tučnost mléka. Na základě dosud provedených studií zabývajících se výpočtem hodnot koeficientu dědivosti pro množství a kvalitativní složky mléka u plemen skotu chovaných v ČR lze jeho hodnotu odhadnout: pro produkci mléka 0,25–0,30, pro procentuální obsah tuku 0,35–0,45, pro obsah bílkovin 0,40–0,50, pro celkovou produkci tuku cca 0,35 a celkovou produkci bílkovin 0,35–0,40 (Urban, 1997).

Dosud bylo u skotu zjištěno 77 QTL ovlivňujících mléčnou produkci, (Cattle QTLdb). Kandidátní geny jsou určovány na základě vazebných analýz (Wang *et al.*, 2008; Rothschild & Soller, 1997). QTL, jsou mapovány do oblastí obsahujících pravděpodobný výskyt kandidátních genů pro mléčnou produkci, reprodukci, funkční vlastnosti (rychlost dojení, životnost stáda, aj.) a konformaci bílkovin a byly identifikovány v předchozích studiích na bovinních autozomech (BTA; *Bos Taurus* Autosome) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 14, 19, 20, 23, 26, 27 a 29. Mapováním QTL se

zabývaly početné studie (Kolbehdarl *et al.*, 2008; Boichard *et al.*, 2003; Ashwell *et al.*, 2005; Schnabel *et al.*, 2005).

Tab. 1: Mapa QTL pro užitkové vlastnosti mléčné produkce skotu (Khatkar *et al.*, 2004)

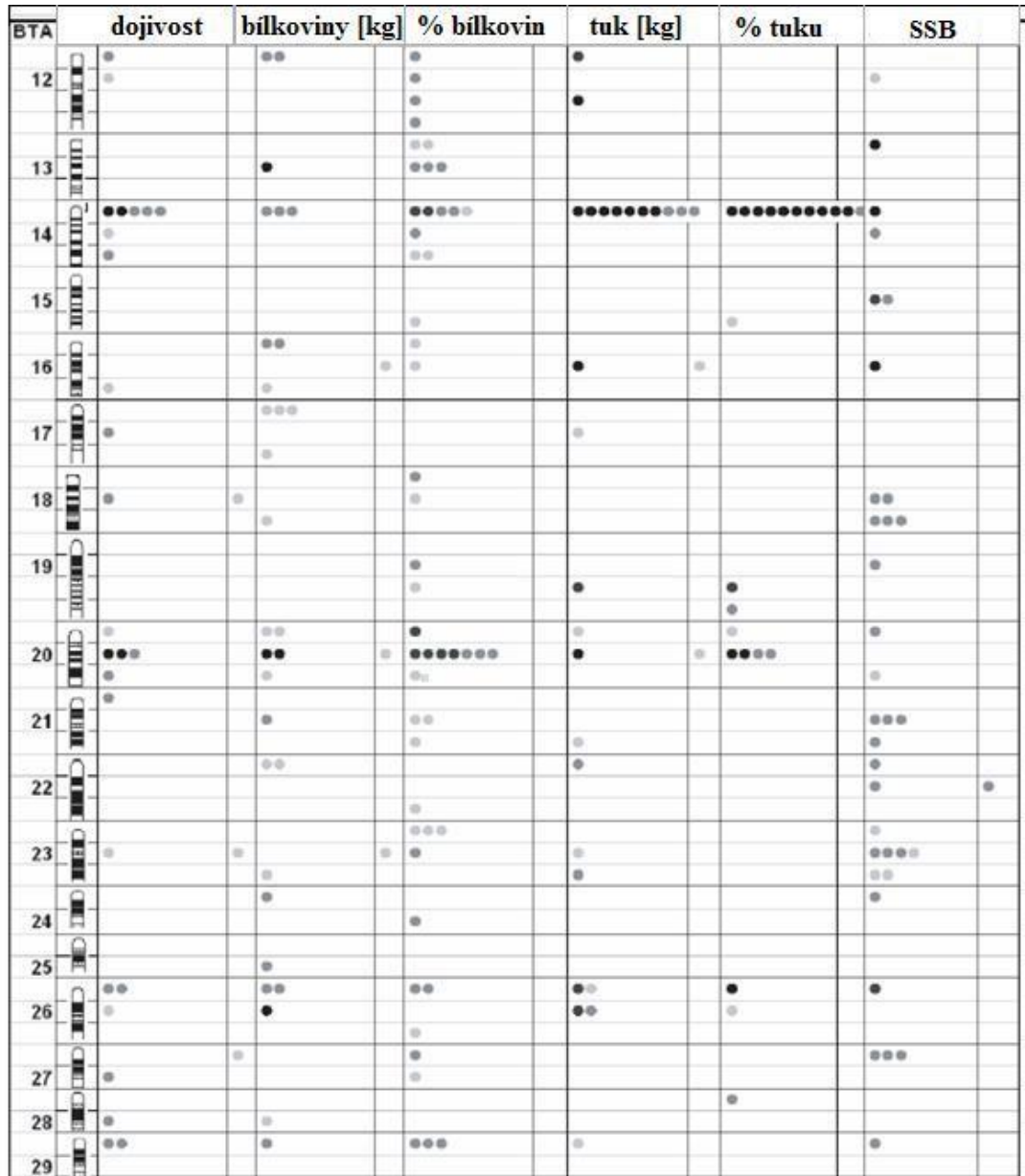


BTA – bovinní autozom; SSB- skóre somatických buňek

V tab. 1 jsou na mapě znázorněny bovinní autozomy 1–11 a v Tab. 2 je znázorněna mapa s bovinními autozomy 12–29. Každý chromozom je rozdělen do úseků dlouhých přibližně 30 cM a jednotlivé tečky v těchto oblastech znázorňují

přítomnost QTL: ● $P < 0,001$, ● $0,001 < P < 0,01$ a ● $0,01 < P < 0,05$ mírně významné (Khatkar *et al.*, 2004).

Tab. 2: Mapa QTL pro užitkové vlastnosti mléčné produkce skotu (Khatkar *et al.*, 2004)



BTA – bobinní autozom, SSB – skóre somatických buněk

QTL ovlivňující dojivost (MY; milk yield) byly identifikovány na 20. a 29. autozomu skotu. Nejvyšší hustota QTL asociovaných s vlastnostmi mléka byla nalezena na BTA14 a BTA6, konkrétně jsou zde výrazné QTL oblasti na BTA 6, a to

49±5,0 cM a 87±7,9 cM (Ogorevc *et al.*, 2009). Mnoho studií dále uvádí, že na BTA 6 je lokalizováno QTL ovlivňující dojivost, množství a procentuální obsah bílkovin v mléce a množství a procento tuku v mléce a je umístěno v blízkosti markeru BM143 (Khatkar *et al.*, 2004). QTL v blízkosti BM143 má pravděpodobně vliv na produkci a procento mléčných bílkovin, množství a procento tuku. QTL pro procento mléčného tuku byly detekovány rovněž v centromerické oblasti bovinního autozomu 14 (BTA14) (Khatkar *et al.*, 2004). Byly také zjištěny QTL na chromozomech 3, 6 a 20 a na chromozomech 1, 3, 6, 9, 14 a 20 pro procento mléčných bílkovin. QTL spojené s mléčnou užitkovostí byly detekovány na chromozomech 2, 11, 15, 22, 24, 25 a 28 (Khatkar *et al.*, 2004).

U některých chromozomů, zejména u BTA 3, 6, 9, 14, 20 a 23 je uváděno, že ukrývají QTL s pleiotropním efektem na produkci mléka, což lze předpokládat na základě znalostí genetických korelací mezi užitkovými vlastnostmi (Khatkar *et al.*, 2004). Na chromozomech 3, 6 a 20 se nachází QTL pro procento bílkovin a na chromozomech 1, 3, 6, 9, 14 a 20 QTL pro procento bílkovin v mléce. Nízká hustota QTL spojených s mléčnou užitkovostí byla zjištěna na chromozomech 2, 11, 15, 22, 24, 25 a 28 (Khatkar *et al.*, 2004).

2.2 Plodnost

Je všeobecně známo, že existuje antagonistický vztah mezi vysokou produkcí mléka a plodností dojnic (Khatib *et al.*, 2009; López-Gatius, 2003; Dobson *et al.*, 2008). Intenzivní selekce na vysokou produkci mléka je spojena s narušením hormonální rovnováhy a nižší intenzitou říje, což vede ke snížení plodnosti vysokoprodukčních dojnic (Khatib *et al.*, 2010; Royal *et al.*, 2000; Dobson *et al.*, 2008).

Produkce mléka na dojnici neustále narůstá, např. v USA se v letech 1991–2001 zvýšila přibližně o 20 % a stále narůstá. Zaznamenaný nárůst mléčné produkce je důsledkem zavedení vhodnějšího managementu, kvalitní výživy a uplatňování intenzivní genomické selekce (Lucy, 2001). Snížení plodnosti vysokoprodukčních dojnic je celosvětově rozšířený problém (Royal *et al.*, 2000; Dobson *et al.*, 2007, 2008), který je hlavní příčinou ekonomických ztrát ve stádech

dojeného skotu (Khatib *et al.* 2009). Důležitým aktuálním chovatelským cílem je tedy zvýšení plodnosti skotu (Blaschek *et al.*, 2011). Celosvětový rozměr problému dokumentuje kromě studií v USA také informace o poklesu plodnosti v Irsku (Lucy, 2001; Roche, 2000), ve Velké Británii (Lucy, 2001; Royal *et al.*, 2000) a Austrálii (Lucy, 2001; Macmillan *et al.*, 1996). Butler (1998) a O'Farrell & Crilly (1999) prezentují data vykazující pokles procenta zabřeznutí po první inseminaci v USA (New York) a Irsku přibližně o 25 % v roce 1996 oproti roku 1951. Podle Lucyho (2001) a Dransfielda *et al.* (1998) bylo v roce 1998 procento zabřeznutí při spontánní ovulaci po inseminaci okolo 45 % (Lucy, 2001; Schmitt *et al.*, 1996; Pursley *et al.*, 1997a, 1997b, 1998).

Jedním z faktorů majících vliv na snížení plodnosti dojeného skotu mohou být i měnící se podmínky životního prostředí, zejména klimatu (Lucy, 2001; Bradley, 2000). Je známo, že je reprodukce krav extrémně citlivá k tepelnému stresu v důsledku zvýšeného metabolismu provázejícího laktaci (Lucy, 2001; Wolfenson *et al.*, 2000). Vyšší produkce mléka tento metabolický stres zvyšuje (Cassell, 2001).

Dědivost (heritabilita) plodnosti je velmi nízká (0,03–0,19) (Dobson *et al.*, 2007; Dekkers *et al.*, 1998; Haile-Mariam *et al.*, 2003; Muir *et al.*, 2004) a účinnost tradičního způsobu selekce je tedy limitována (Druet *et al.* 2008; Guillaume *et al.* 2007). Lucy (2001) poznamenává, že se epidemiologické studie zmiňují rovněž o dalších faktorech snižujících plodnost krav.

Existují i výjimky v rámci plemen, u nichž genetická korelace mezi plodností a produkcí není záporná, ale kladná, tzn. čím lepší je produkce skotu, tím vyšší je i plodnost. Příkladem je norský červený skot (Dobson *et al.*, 2007; Chang *et al.*, 2006). Vliv zvyšující se mléčné produkce je relativně malý v porovnání s vlivem dalších faktorů, kterými jsou např. onemocnění v poporodním období (zadržení placenty, metritida, ovariální cysty (Lucy, 2001).

Hlavní příčinou neplodnosti a vyššího počtu případů pozdní embryonální mortality u dojeného skotu je narušená hormonální rovnováha způsobující prodlouženou luteální aktivitu nebo zpoždění ovulace (Driver *et al.*, 2009; Lamming & Darwash, 1998). Procento zabřezávání krav je závislé na procentu přežitelnosti embryí. Je potřeba identifikovat genetické faktory zodpovědné za snížení procenta přežitelnosti embryí. Identifikace těchto faktorů by umožnila snížení frekvence

nepříznivých alel, a tím zlepšení reprodukční úrovně dojeného skotu (Khatib *et al.*, 2009).

Reprodukční schopnosti zahrnuté v selekčních indexech (Miglior *et al.*, 2005). Velká pozornost byla věnována QTL ovlivňujících plodnost, a to ke klesající úspěšnosti inseminace u holštýnského skotu. Genetické mapování QTL asociovaných s plodností krav se tedy jeví jako užitečné, protože identifikace genů s hlavním efektem na plodnost by umožnila selekci vedoucí ke zvýšení reprodukční schopnosti dojeného skotu, uplatňovanou zejména jako marker asistovaná selekce (Druet *et al.*, 2008; Guillaume *et al.*, 2007; Driver *et al.*, 2009) nebo gen asistovaná selekce.

Podle Khatkara *et al.* (2004) a Schrootena *et al.* (2000) jsou na BTA 4 lokalizovány QTL mající vliv na délku březosti. QTL s vlivem na stupeň obtížnosti porodu a narození mrtvých mláďat jsou úzce spojena s hlavním histokompatibilním komplexem BoLA (Bovine Leukocyte Antigen; hlavní histokompatibilní komplex) na BTA 23 u holštýnsko-fríského plemene skotu (Khatkar *et al.*, 2004; Kuhn *et al.*, 2003).

2.3 Genomika ve šlechtitelském programu dojeného skotu

Během posledního desetiletí roste zájem vědců o použití poznatků genomiky ve šlechtitelském programu dojeného skotu (Sonstegard *et al.*, 2001).

Genetická variabilita je základem fenotypové proměnlivosti produkce a rozdílné konformace bílkovin v aminokyselinovém řetězci (Smaragdov *et al.*, 2006). Příkladem rozdílné konformace bílkovin může být β -kasein, druhý nejvíce zastoupený protein v mléce po α -kaseinu. Jeho molekula se skládá z 209 aminokyselin a dosud bylo detekováno 12 různých polymorfních variant genu pro β -kasein - A1, A2, A3, A5, B, C, D, E, F, G, H a I (Ryba, 2011; Manga, 2007).

Genom skotu byl kompletně osekvenován roku 2007 (Khatkar *et al.*, 2007) a bylo nalezeno cca 22 700 genů a přibližně 2 miliony SNP (single nucleotide polymorphism; jednonukleotidový polymorfismus). Variabilita genotypu způsobená substitucí, inzercí či delecí je široká, avšak pouze malá část těchto mutací je v kódující oblasti. Převážná část fenotypové variability způsobená polymorfismem

v daném lokusu je prakticky bezvýznamná (Żukiewicz *et al.*, 2012). Nová technologie DNA čipů (microarrays) umožňuje genotypizaci mnoha tisíců SNP (Druet *et al.*, 2008; Khatkar *et al.*, 2006, 2007; Gautier *et al.*, 2007). SNP jsou místa v genomu, kde se mohou vyskytovat jeden nebo dva odlišné nukleotidy (Brown, 2007), jsou nejčastější ze všech DNA variant v genomu (Kolbehdari *et al.*, 2008; Snelling *et al.*, 2005) a jejich preference jako genetického markeru roste díky nižšímu výskytu mutací a snadné genotypizaci (Kolbehdari *et al.*, 2008; Hinds *et al.*, 2005). SNP se používá pro detekci a lokalizaci QTL pro užitkové vlastnosti u mnoha druhů (Kolbehdari *et al.*, 2008; Daw *et al.*, 2005). Hlavním cílem těchto QTL studií je najít geny/markery, které by mohly být realizovány ve šlechtitelském programu prostřednictvím MAS (Marker Assisted Selection; marker asistovaná selekce) (Khatkar *et al.*, 2004; Abdel-Azim & Freeman, 2002; Spelman & Garrick, 1996) nebo GAS (Gene Assisted Selection; gen asistovaná selekce). Pro identifikaci genetických markerů jsou používány dvě hlavní metody: mapování celého genomu a přístup kandidátních genů (Oikonomou *et al.*, 2011; Veerkamp & Beerda, 2007). Přístupem kandidátních genů byl zjištěn pravděpodobný vliv genu fibroblastového růstového faktoru (*FGF2*) na dojivost a plodnost dojeného skotu (Oikonomou *et al.* 2011).

2.4 Rodina fibroblastových růstových faktorů

2.4.1. Charakteristika rodiny fibroblastových růstových faktorů

Rodina fibroblastových růstových faktorů se skládá z několika strukturně podobných proteinů, které vykazují rozmanitost biologických funkcí - od proliferační a neurotrofické aktivity, až po na tkáni dependentní modulaci buněčné diferenciaci (Jackson *et al.*, 1997; Basilico & Moscatelli, 1992; Burgess & Maciag, 1989). Jejich lokalizaci v genomu skotu nalezneme v tab. 3.

Tab. 3: Lokalizace *FGF* genů v genomu skotu (NCBI, 2014)

Gen	Lokalizace	Sekvence
FGF1	Chromozom 7	55472447 .. 55602023
FGF2	Chromozom 17	35199615..35259135
FGF3	Chromozom 29	47692791 .. 47699877
FGF4	Chromozom 29	47656594..47657616
FGF5	Chromozom 6	96723382..96746176
FGF6	Chromozom 5	106157909..106169922
FGF7	Chromozom 10	61005196..61069244
FGF8	Chromozom 26	22374836..22380835
FGF9	Chromozom 12	35630809..35647611
FGF10	Chromozom 20	30519216..30533635
FGF11	Chromozom 19	27751012..27757019
FGF12	Chromozom 1	75288095..75899444
FGF13	Chromozom X	22043201..22693068
FGF14	Chromozom 12	82112586..82751285
FGF16	Chromozom X	79946794..79954814
FGF17	Chromozom 8	69859421..69864844
FGF18	Chromozom 20	3132655..3195037
FGF19	Chromozom 29	47590266..47607009
FGF20	Chromozom 27	19273621..19283327
FGF21	Chromozom 18	55833861..55836219
FGF22	Chromozom 7	44876333..44878980
FGF23	Chromozom 5	106208179..106216757

Dosud bylo popsáno 22 FGF, které byly zařazeny do 7 podrodin (tab. 4) (Portela *et al.*, 2010; Itoh & Ornitz, 2004), funkce většiny z nich je realizována prostřednictvím transmembránových receptorů fibroblastových růstových faktorů (FGFR; Fibroblast Growth Factor Receptor) (Portela *et al.*, 2010).

Tab. 4: FGF podrodiny u člověka (upraveno podle Hynes *et al.*, 2010; Ornitz *et al.*, 1996; Zhang *et al.*, 2006; Kurosu *et al.*, 2006, 2007; Suzuki *et al.*, 2008; Schwertfeger, 2009; Portela *et al.*, 2010; Machado *et al.*, 2009; Beenken & Mohammadi, 2009; Itoh & Ornitz, 2004)

FGF podrodina	FGF zařazené v podrodině
FGF1 podrodina	FGF1; FGF2
FGF4 podrodina	FGF4; FGF5; FGF6
FGF7 podrodina	FGF3; FGF7; FGF10; FGF22
FGF8 podrodina	FGF8; FGF17; FGF18
FGF9 podrodina	FGF9; FGF16; FGF20
FGF19 podrodina	FGF19; FGF21; FGF23
Fibroblastové homologní faktory	FGF11–14

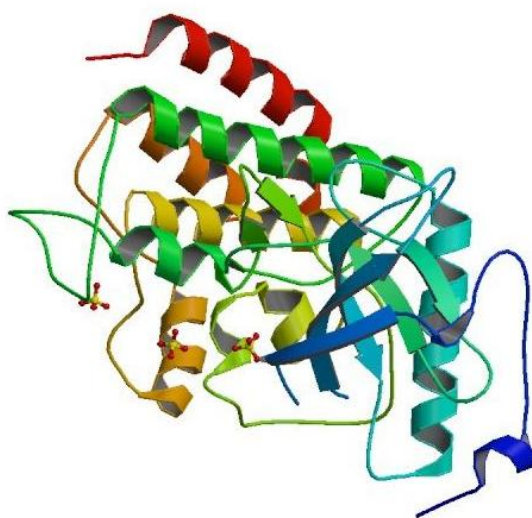
Fibroblastové růstové faktory jsou významné pro svou rozhodující roli při morfogenezi u vyvíjejícího se embrya (Thisse & Thisse, 2005) a pro proliferaci endoteliálních buněk (Kotlín & Dyr, 2008; Carmeliet *et al.*, 2003). Některé FGF a FGFR se účastní časného vývoje plodu u savců (Cooke *et al.*, 2009; Haimovici *et al.*, 1991; Hrabe *et al.*, 1995; Taniguchi *et al.*, 1998) a také různých fází vývoje od pozdní gastrulace až po vznik základů jednotlivých orgánů (Arman *et al.*, 1998; Feldman *et al.*, 1995; Yamaguchi *et al.*, 1994; Deng *et al.*, 1994; Mansour *et al.*, 1993; Cohn *et al.*, 1995; Post *et al.*, 1996; Neubuser *et al.*, 1997; Herbert *et al.*, 1994). U dospělých jedinců jsou zapojeny v angiogenezi, účastní se při procesu hojení ran, ale i při vývoji tumoru (Arman *et al.*, 1998; Flamme & Risau, 1992; Werner *et al.*, 1994; Folkman, 1995), vzniku kongenitálních defektů lebky nebo defektů končetin (Wilkie *et al.*, 1995). Fibroblastové růstové faktory představují velkou skupinu autokrinních a parakrinních faktorů, které mají různé biologické funkce u různých mnohobuněčných organismů (Michael *et al.*, 2006; Ornitz & Itoh, 2001). Například FGF2, FGF9 a FGF18 hrají roli při vývinu gonád a diferenciaci pohlaví (Portela *et al.*, 2010; Koike & Noumura, 1994; Cotton *et al.*, 2008; Cory *et al.*, 2007). Jsou též zapojeny v parakrinní signalizaci u ovariálních folikulů a bylo též zjištěno, že se podílejí na funkci vaječnicků (Portela *et al.*, 2010). Např. *FGF7* a *FGF10* jsou exprimovány převážně v thekálních buňkách a jejich hlavní receptor, b

splice varianta FGFR2 je umístěna na granulózniích buňkách (Portela *et al.*, 2010; Berisha *et al.*, 2004; Parrott & Skinner, 1998). Oba proteiny, FGF7 a FGF10 inhibují sekreci estradiolu z granulózniích buněk (Portela *et al.*, 2010; Parrott & Skinner, 1998; Buratini *et al.*, 2007). FGF9 je také exprimován především v thekálních buňkách a stimuluje sekreci progesteronu z granulózniích buněk (Portela *et al.*, 2010; Drummond *et al.*, 2007).

Někteří zástupci FGF rodiny a jejich receptory byly detekovány v mléčné žláze (Wang *et al.*, 2008; Coleman-Krnacik & Rosen, 1994).

2.4.2 FGFR (Receptory fibroblastových růstových faktorů)

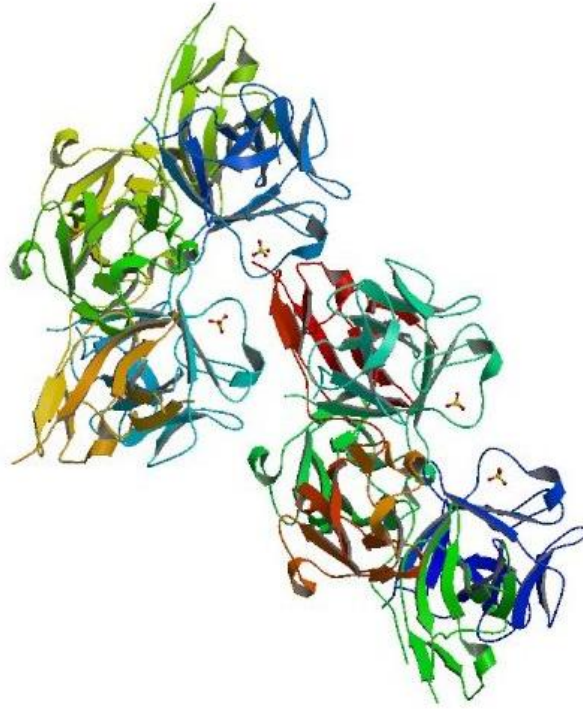
FGF interagují se skupinou tyrozinkinázových receptorů známých jako FGF receptory (FGFR). Na obr. 1 je zobrazena kinázová doména FGFR1 člověka. Tyto receptory (FGFR1; FGFR2; FGFR3; FGFR4) jsou kódovány čtyřmi geny (Böttcher & Niehrs, 2005; Johnson & Williams, 1993). FGFR1–FGFR3 jsou lokalizovány v thekálních a granulózniích buňkách vaječníků skotu (Drummond *et al.*, 2007; Berisha *et al.*, 2004; Parrott & Skinner, 1998), exprese *FGFR4* je omezena na thekální buňky (Drummond *et al.*, 2007; Buratini *et al.*, 2005).



Obr. 1: Krystalická struktura kinázové domény FGFR1 člověka. Proteinový řetězec je spektrálně barven od N-konce k C-konci (Protein Data Bank, 2014)

FGFR3 je receptor tyrozinkinázy exprimovaný v kostech, mozku, páteřní míše a hlemýždi ucha. Bodové mutace *FGFR3* genu způsobují tři odlišné kostní dysplazie: achondroplazii, hypochondroplazii, thanatoforickou dysplazii (Colvin *et al.*, 1996). Achondroplazie je nejčastější formou genetické zakrslosti a je způsobena téměř ve všech případech substitucí glycinu za arginin v pozici 380 v transmembránové doméně FGFR3 (Colvin *et al.*, 1996; Muenke & Schell, 1995; Rousseau, 1994; Shiang *et al.*, 1994). Nedávno byly u pacientů s Crouzonovým syndromem (kraniofaciální dysostóza, lat. *Dysostosis craniofacialis*), což je autozomálně dominantní onemocnění charakterizované vrozenou poruchou vývoje lebky, objeveny transmembránové mutace v FGFR3 (odlišné od achondroplazie). Do té doby byl Crouzonův syndrom spojován s mutací na imunoglobulinu podobné doméně III receptoru FGFR2 (Colvin *et al.*, 1996; Meyers *et al.*, 1995).

FGFR jsou receptory tyrozinkinázy, které obsahují extracelulární doménu vázající specifický ligand (obr. 2), transmembránovou doménu a intracelulární intracelulární tyrozinovou doménu pro sestřih. Extracelulární oblast obsahuje dva nebo tři imunoglobulinu podobné domény (imunoglobulin Ig-like domain) a doménu vázající heparin (Itoh & Ornitz, 2004; Ornitz, 2000; Powers, 2000). Krátké formy receptorů mohou mít větší afinitu k některým FGF více než formy dlouhé (Ornitz *et al.*, 1996; Wang *et al.*, 1995). FGF váže FGFR a vyvolává jeho dimerizaci a fosforylaci specifických cytoplazmatických tyroinických zbytků. Fosforylace FGFR spouští aktivaci dráhy cytoplazmatického signálního transduktoru (Itoh & Ornitz, 2004). Byly identifikovány 2 skupiny receptorů pro FGF na povrchu buňky: s vysokou a s nízkou afinitou. Čtyři vysoce afinní receptory (FGFR1–FGFR4) jsou složeny z extracelulární ligand vázící domény, která obsahuje 3 imunoglobulinu podobné domény (D1–D3), jednoduchého transmembránového helixu (Single Transmembrane Helix) a cytoplazmatické domény, která obsahuje protein tyrozinkinázu (Plotnikov *et al.*, 1999; Jaye *et al.*, 1992; Johnson & Williams, 1993). Nízkoafinní receptory jsou heparin a heparansulfátproteoglykan (HSPG, Heparan Sulfate-containing Proteoglycan) (Plotnikov *et al.*, 1999; Burgess & Maciag, 1989).



Obr. 2: Krystalická struktura FGF v komplexu s extracelulární doménou vázící ligand FGFR2 (Protein Data Bank, 2014)

Většina FGF je sekretována buď endoplazmatickým retikulem, Golgiho aparátem nebo alternativní exocytotickou dráhou (Ocón-Grove *et al.*, 2008; Ornitz & Itoh, 2001; Itoh & Ornitz, 2004). Po sekreci fibroblastových růstových faktorů dochází ke spojování FGF s heparinem nebo heparansulfátproteoglykanem, který stabilizuje FGF, čímž zabraňuje tepelné denaturaci a proteolýze a FGF tak mohou efektivněji aktivovat FGFR (Itoh & Ornitz, 2004; Ornitz & Itoh, 2001; Ornitz, 2000). Heparansulfátproteoglykan (HSPGs) je považován za důležitý regulátor biologické aktivity FGF2, protože působí přímo na povrchový receptor buňky (Ornitz *et al.*, 1992; Ruoslahti, 1989). Heparin a heparansulfátproteoglykan jsou též významnými regulátory buněčného růstu (Ornitz *et al.*, 1992; Vlodaysky *et al.*, 1987) a heparansulfát je složkou většiny extracelulárních struktur, tzn., že se předpokládá jeho vliv na kontrolu růstu během morfogeneze na buněčnou diferenciaci a růst endoteliálních buněk (Saksela & Rifkin, 1990; Castellot *et al.*, 1987; Iozzo, 1988; San Antonio *et al.*, 1987; Thesleff *et al.*, 1989).

Rozmanitost receptorů je vytvářena alternativním sestřihem (Groth & Lardelli, 2002). Jeden z těchto sestřihů v rámci imunoglobulinu podobné domény

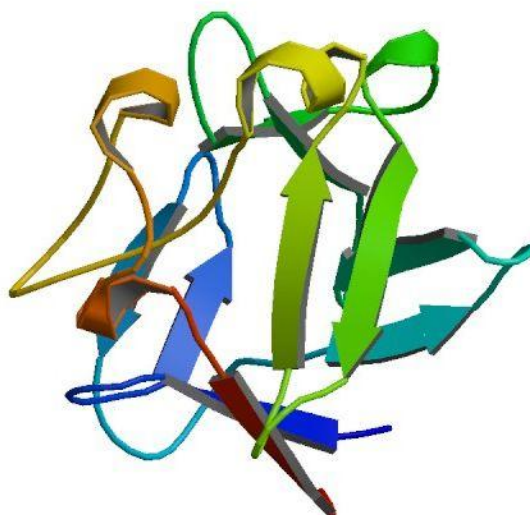
(immunoglobulin like domain) FGFR1–3, kde proběhne sestřih jednoho nebo dvou exonů z kódovaného transkriptu, vytváří podtypy receptorů nazývaných IgIIIb a IgIIIc. Tyto sestříhané varianty rozpoznávají odlišné ligandy (Johnson *et al.*, 1991, Werner *et al.*, 1992, Powers *et al.*, 2000). IgIIIb forma FGFR2 (R2b) interaguje především s FGF1, 3, 7, 10 a 22, zatímco forma IgIIIc (R2c) interaguje s FGF 1, 2, 4, 6 a 9 (Cooke *et al.*, 2009; Powers *et al.* 2000, Itoh & Ornitz 2004).

Každý FGF ligand váže specifický FGFR, který zesiluje dimerizaci receptoru, aktivaci kinázy a autofosforylaci specifických thyroindních zbytků (Hynes & Watson, 2010; Mohammadi *et al.* 1996; Lew *et al.* 2009).

2.4.3 FGF1 podrodina

2.4.3.1 Fibroblastový růstový faktor 1 (FGF1)

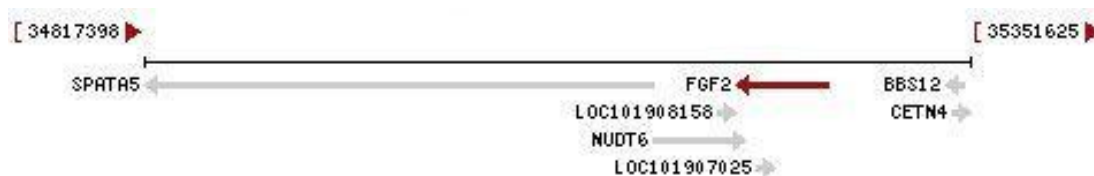
FGF1 (Fibroblast Growth Factor 1), zobrazený na obr. 3, známý také jako acidický FGF byl nalezen v oocytech folikulů, granulózních buňkách, thekálních buňkách a ve žlutém tělísku (Drummond *et al.*, 2007; Berisha *et al.*, 2004; Makris *et al.*, 1989; Guthridge *et al.*, 1992; Peluso & Pappalardo, 1999; van Wezel *et al.*, 1995; Nilsson *et al.*, 2001). Jeho exprese byla u skotu lokalizována především v thekálních buňkách (Buratini *et al.*, 2005; Berisha *et al.*, 2004). Ukázalo se, že FGF1 a FGF2 stimulují granulózní buňky, thekální buňky a luteální proliferační buňky (Drummond *et al.*, 2007; Grazul-Bilska *et al.*, 1995; Gospodarowicz *et al.*, 1989; Hoshi *et al.*, Lavranos *et al.*, 1994; Roberts & Ellis, 1999).



Obr. 3: 3D struktura FGF1 skotu. Proteinový řetězec je spektrálně barven od N-konce k C-konci (Protein Data Bank, 2014)

2.4.3.2 Fibroblastový růstový faktor 2 (FGF2)

FGF2 (Fibroblast Growth Factor 2), známý jako bazický FGF, umístěný na 17. chromozomu skotu (obr. 4), byl prvním identifikovaným členem velké rodiny FGF (Cooke *et al.*, 2009). Fibroblastový růstový faktor 2 (*FGF2*; Fibroblast Growth Factor 2) je exprimován v děložním endometriu v průběhu říje a v období časně březosti (Wang *et al.*, 2008). FGF2 reguluje expresi interferonu- τ , klíčového člena signální dráhy zasahujícího do produkce mléka (Wang *et al.*, 2008). Wang *et al.*, (2008) a Plath *et al.* (1998) také dále uvádí, že v mléčné žláze skotu dochází k expresi *FGF2* v průběhu různých vývojových stádií, což naznačuje jeho důležitost pro vývoj mléčné žlázy. Rovněž exprese mikroRNA (miRNA) v mléčné žláze by mohla hrát důležitou roli v regulačních drahách při vývoji mléčné žlázy, produkci mléka a odolnosti nebo vnímavosti k mastitidě (Ogorevc *et al.*, 2009; Silveri *et al.*, 2006).



Obr. 4: Lokalizace *FGF2* genu na 17. bovinním autozomu (NCBI, 2014)

FGF2 gen je také kandidátním genem pro plodnost skotu (Oikonomou *et al.* 2011). Khatib *et al.* (2008) uvádí spojitost *FGF2* genu s přežitelností embryí a procentem oplodnění v pokusech *in vitro*. *FGF2* může stimulovat hematopoézu (Bikfalvi *et al.*, 1997; Bikfalvi & Han, 1994; Allouche & Bikfalvi, 1995) a hrát důležitou roli při diferenciaci a funkci nervového systému (Bikfalvi *et al.*, 1997; Logan *et al.*, 1991; Baird, 1994; Unsicker *et al.*, 1992), funkci očí (Bikfalvi *et al.*, 1997; McAvoy *et al.*, 1991) a funkci při hojení kostí a osteogenezi) (Bikfalvi *et al.*, 1997; Riley *et al.*, 1993; Fallon *et al.*, 1994) (tab. 5). *FGF2* je produkován mnoha buněčnými typy a tkáněmi a proto jsou jeho biologické role různorodé. Je zahrnut v embryogenezi a morfogenezi (zejména v nervovém systému a formaci kostí) (Arnaud, *et al.*, 1999; Coffin *et al.*, 1995; Wagner, 1991). *FGF2* je rovněž hlavní angiogenní faktor (Arnaud *et al.*, 1999; Kandel *et al.*, 1991). Pleiotropní role *FGF2* může být částečně vysvětlena různými způsoby aktivity tohoto faktoru (Arnaud *et al.*, 1999). Má úlohu v parakrinní a autokrinní signalizaci. Tento mechanismus účinku je zprostředkován díky specifickým receptorům *FGF2*, jejichž aktivace indukuje kaskády, které zajistí přenos signálu (Arnaud *et al.*, 1999; Yayon *et al.*, 1991). Na druhé straně *FGF3* vykazuje také intrakrinní aktivitu, čímž je umožněn přímý vliv na intracelulární oblasti i v nepřítomnosti *FGF2* vzniklého sekrecí (Arnaud *et al.*, 1999; Bikfalvi *et al.*, 1995; Davis *et al.*, 1997).

Tab. 5: Předpokládaná funkce *FGF2* v různých orgánových systémech
(Bikfalvi *et al.*, 1997)

Orgán	Předpokládaná funkce
Mozek	Neuronální diferenciace
Krevní cévy	Angiogeneze; proliferace buněk hladkého svalstva; vznik aterosklerózy; regulace krevního tlaku
Plíce	Fibróza; morfogeneze plic (větvení)
Končetiny	Vývoj končetin
Svaly	Myogeneze
Kosti	Hojení kostí; chondrogenese
Hematopoéza	Stimulace granulopoézy, megakaryocytopoézy; přežitelnost kmenových buněk; antiapoptický efekt
Reprodukční soustava	Spermatogeneze
Oči	Životnost fotoreceptoru a transdukce
Kůže	Melanogeneze; morfogeneze suprabazálních keratinocytů; oprava poškození kůže

Během březosti je zdrojem *FGF2* pro plod pravděpodobně endometrium. *FGF2* mRNA a jeden z receptorů - FGFR2, jsou přítomny během časných fází (včetně stádia blastocysty) vývoje plodu skotu (Michael *et al.*, 2006; Daniels *et al.*, 2000; Lazzari *et al.*, 2002). Suplementace *FGF2*, za předpokladu, že je přítomen společně s TGF- β (Transforming Growth Factor β) zlepšuje embryonální vývoj blastocysty skotu (Michael *et al.*, 2006; Larson *et al.*, 1992; Lim & Hansel, 1996). Je zároveň exprimován během estrálního cyklu (Wang *et al.* 2008). Nezbytnost pro bovinní embryogenezi naznačuje fakt, že transkripty pro *FGF2* a *FGF4* byly detekovány v bovinních blastocystách (Daniels *et al.* 2000; Cooke *et al.* 2009; Yang *et al.*, 2011).

FGF2 interaguje se specifickými receptory na povrchu buněk. Byly identifikovány čtyři hlavní skupiny receptorů: FGFR1, FGFR2, FGFR3 a FGFR4 (Bikfalvi *et al.*, 1997; Basilico & Moscatelli, 1992; Jaye *et al.*, 1992). Je známo, že *FGF2* interaguje s FGFR1 (IIIb a IIIc sestříhanou variantní formou), FGFR2-IIIc, FGFR3-IIIc a FGFR4 s různou afinitou (Michael *et al.*, 2006; Powers *et al.* 2000)

Tyto receptory mají stejnou funkci zahrnující intracelulárně zachovanou thyroïdkinázovou doménu, transmembránovou doménu a extracelulární na ligand vázanou doménu, která může obsahovat dva nebo tři imunoglobulinu podobné smyčky (Hou *et al.*, 1991; McKeehan *et al.*, 1993).

Bazický FGF má silnou afinitu k heparinu i heparansulfátproteoglykanu (Kiefer *et al.*, 1990; Riffkin & Moscatelli, 1994) a může být vázán na heparansulfátproteoglykan na buněčném povrchu nebo v extracelulární matrix (Saksela & Rifkin, 1990). Hironaka *et al.*, (1997), Kirihara & Ohishi, (1995) poukazují na to, že růstovému hormonu podobný bazický FGF (basic FGF-like growth factor) je přítomen v mléce skotu i v mateřském mléce člověka. Membrána tukových kapének v mléce obsahuje rovněž heparansulfátproteoglykan (Shimizu *et al.*, 1981). Hironaka *et al.*, (1997); Fukushima *et al.* (1994) a Kirihara & Ohishi, (1995) prokázali syntézu lidského bazického FGF v mléčné žláze. Heparansulfát byl uveden jako hlavní glykosaminoglykan v membráně tukové kapénky mléka u skotu i u lidí (Shimizu *et al.*, 1981).

Hironaka *et al.* (1997) a Schams (1994) detekovali během laktace v kravském mléce téměř konstantní koncentrace růstovému faktoru podobný bazický FGF (basic FGF-like growth factor), což naznačuje, že tento faktor může transmigrovat z krve. Fyziologický význam přítomnosti bazického FGF v kolostru není zcela jasný. Předpokládá se, že FGF2 je zahrnut ve stimulaci buněčného růstu v mléčné žláze nebo slouží pro proliferační funkce u narozených mláďat (Hironaka *et al.*, 1997).

Izoforma FGF2 s vysokou molekulovou hmotností je tvořena 210 aminokyselinami a jejich syntéza je iniciována vzácným CUG start kodonem, který se nachází v jádře. Naproti tomu existuje druhá izoforma FGF2 o nízké molekulové hmotnosti tvořená 155 aminokyselinami, jejichž syntéza je iniciována AUG start kodonem. Tyto 2 izoformy mají různé biologické vlastnosti, o jejichž regulačních mechanismech není zatím příliš známo (Gaubert *et al.*, 2001). Molekula FGF2 s nízkou molekulovou hmotností reguluje buněčné funkce především prostřednictvím autoparakrinních mechanismů, zatímco molekula FGF2 s vyšší molekulovou hmotností uplatňuje své biologické účinky prostřednictvím intrakrinních drah, nezávisle na aktivaci FGF receptorů na povrchu buňky (Gaubert *et al.*, 2001; Bikfalvi *et al.*, 1997; Stachowiak *et al.*, 1997; Delrieu *et al.*, 2000).

FGF2 se hromadí v jádru a jadérku buněk (Sheng *et al.*, 2004). Zástupci formy fibroblastového růstového faktoru s vysokou molekulární hmotností (22, 22.5, 24, a 34 kDa) a formy s nízkou molekulovou hmotností (18 kDa) regulují buněčnou proliferaci, diferenciaci a migraci.

FGF2 hraje roli ve vývoji gonád a diferenciaci pohlaví (Portela *et al.*, 2010; Koike & Noumura, 1994; Cotton *et al.*, 2008; Cory *et al.*, 2007).

2.4.4 FGF4 podrodina

2.4.4.1 Fibroblastový růstový faktor 4 (FGF4)

Nejčasněji působící člen FGF rodiny je FGF4 (Fibroblast Growth Factor 4). Je exprimován již během rýhování vajíčka (Arman *et al.*, 1998; Rappolee *et al.*, 1994), později pak v blastocystách v cylindrickém epitelu vajíčka (Arman *et al.*, 1998; Niswander & Martin, 1992).

2.4.4.2 Fibroblastový růstový faktor 5 (FGF5)

FGF5 (Fibroblast Growth Factor 5) poprvé identifikoval Zhang *et al.*, (1988) na základě screeningu transformovaných onkogenů (Allerstorfer *et al.*, 2008). FGF5 byl charakterizován jako regulátor cyklu růstu vlasů a srsti (Allerstorfer *et al.*, 2008; Hebert *et al.*, 1994; Suzuki *et al.*, 1998, 2000; Taniguchi *et al.*, 2003) vedoucí k fenotypovému projevu angory u knockoutovaných myší (Allerstorfer *et al.*, 2008; Sundberg *et al.*, 1997). FGF5 se skládá ze 3 exonů a je považován za nezbytný regulátor vývoje vlasových folikulů (Chen *et al.*, 2013; Rosenquist & Martin, 1996). Nedávné studie také naznačují, že FGF5 je asociována s délkou srsti (Chen *et al.*, 2013; Paus & Cotsarelis, 1999; Housley & Venta, 2006; Drogemuller *et al.*, 2007; Kehler *et al.*, 2007; Hebert *et al.*, 1994). FGF5 je glykoprotein sekretovaný u savců a člen FGF4 podrodiny, která zahrnuje *FGF4*, *FGF5*, *FGF6*. K jeho signalizaci dochází přes FGF receptory s různou afinitou, v sestupném pořadí s FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4 (Kumar & Chapman, 2012; Zhang *et al.*, 2006). Tyto FGF5 signály jsou transdukovány převážně přes receptor FGFR1 variantu IIIc (Allerstorfer *et al.*,

2008; Ornitz *et al.*, 1996). FGF5 slouží jako regulátor diferenciaci a přežitosti neuronů v mozku (Allerstorfer *et al.*, 2008; Lindholm *et al.*, 1994). FGF5 je exprimován v centrální nervové soustavě dospělých myší a zároveň i během jejich embryogeneze (Allerstorfer *et al.*, 2008; Haub *et al.* 1990; Haub & Goldfarb, 1991).

2.4.4.3 Fibroblastový růstový faktor 6 (FGF6)

FGF6 (Fibroblast Growth Factor 6), další člen FGF4 podrodiny má úlohu v myogenezi u myší. FGF6 je exprimován v myotomu a později v tkáni kosterního svalstva (Kumar & Chapman, 2012; Armand *et al.*, 2006a). Gen *FGF6* je také exprimován v ústní dutině, jazyku, hltanu a krčních svalech. Dále je regulátorem metabolismu kostí (Kumar & Chapman, 2012; Armand *et al.*, 2006b; deLapeyriere *et al.*, 1993; Han & Martin, 1993; Rescan, 1998). Afinita k jednotlivým receptorům je stejná jako u FGF5 (Kumar & Chapman, 2012; Zhang *et al.*, 2006).

2.4.5 FGF7 podrodina

FGF7 podrodina vykazuje odlišnou expresi v průběhu cyklu vývoje myšího chlupu. FGF7 a FGF10 jsou ve velké míře exprimovány 8. den jejich vývoje, tj. v době jejich intenzivního růstu. K silné expresi FGF22 dochází 18. den vývoje myšího chlupu, kdy chlup dosahuje své maximální délky (Jarosz, *et al.*, 2012; Komi-Kuramochi *et al.*, 2005).

FGF je slabě exprimován v kůži myší a lidí, ale jeho exprese v případě zranění kůže dramaticky roste (Jarosz *et al.*, 2012; Werner *et al.*, 1992; Tagashira *et al.*, 1997). Následně během prvních dnů po zranění klesá exprese *FGF22* a zůstává na nízké hladině až do 5. dne po zranění kůže. Sedmý den po kožním zranění se exprese zvýší nad základní hladinu a přetrvává až do 13. dne po úrazu kůže a je přítomen na tenké pokožce až do úplného zhojení (Jarosz *et al.*, 2012; Beyer *et al.*, 2003).

2.4.5.1 Fibroblastový růstový faktor 3 (FGF3)

FGF3 (Fibroblast Growth Factor 3) kóduje FGF3 (fibroblastový růstový faktor 3). Během vývoje lidského plodu stimuluje buňky k vytvoření struktur podílejících se na vývoji vnitřního ucha. FGF3 protein je také zahrnut ve vývoji mnoha jiných orgánů a struktur, včetně vnějších ucha a zubů (Genetics Home Reference, 2012). Bylo zjištěno, že je FGF3 negativním regulátorem vývoje dlouhých kostí (Arman *et al.*, 1998; Deng *et al.*, 1996; Colvin *et al.*, 1996).

2.4.5.2 Fibroblastový růstový faktor 7 (FGF7)

FGF7 (Fibroblast Growth Factor 7) je známý jako keratinocytový růstový faktor (KGF; Keratinocyte Growth Factor) (Kumar & Chapman, 2012). FGF7 je exprimován v thékálních buňkách a luteálních buňkách (Drummond *et al.*, 2007; Salli *et al.*, 1998). FGF7 stimuluje proliferaci a brání tvorbě steroidů granulózních buněk ovaria skotu (Buratini *et al.*, 2005; Parrott & Skinner, 1998). Proteiny FGF7 a FGF10 také inhibují sekreci estradiolu z granulózních buněk (Portela *et al.*, 2010; Parrott & Skinner, 1998; Buratini *et al.*, 2007).

2.4.5.3 Fibroblastový růstový faktor 10 (FGF10)

FGF10 (Fibroblast Growth Factor 10) hraje nejdůležitější roli v plicích a je exprimován v mezenchymatických buňkách v blízkosti vrcholu tubulárních žláz obsahujících epitelální buňky, zatímco jeho receptor je exprimován v epitelálních buňkách (Hynes & Watson, 2010).

2.4.5.4 Fibroblastový růstový faktor 22 (FGF22)

Jarosz *et al.* (2012) prováděli pokusy na myších zbavených *FGF22* genu. Myši byly životaschopné, plodné a nevykazovaly žádné zjevné abnormality. Navzdory expresi *FGF22* (Fibroblast Growth Factor 22) v kůži, nebyly pozorovány žádné rozdíly v morfologii nebo funkci kůže či v srsti u myši ve srovnání s funkčním

a nefunkčním *FGF22* genem. Pokusem bylo prokázáno, že FGF22 není během embryogeneze nezbytný, stejně tak jako během vývoje kůže. Myši postrádající FGF22 byly schopny stejně efektivně hojit poranění kůže jako tomu bylo u jedinců s aktivním FGF22. Ukázalo se ale, že u myší, které postrádaly FGF22, bylo vyvinuto méně benigních nádorů epitelu, tzv. papilomů, což naznačuje proonkogenní roli FGF22 v kůži. Studie Jarosze *et al.* (2012) tedy naznačuje, že FGF22 by mohl hrát roli v karcinogenezi u pokožky.

FGF22 je jednoznačně exprimován v epiteliálních buňkách (Jarosz *et al.*, 2012; Beyer *et al.*, 2003). V kůži dospělých myší je FGF22 exprimován uvnitř pochvy chlupového váčku (Jarosz *et al.*, 2012; Nakatake *et al.*, 2001) a v interfolikulární epidermis (Jarosz *et al.*, 2012; Beyer *et al.*, 2003).

2.4.6 FGF8 podrodina

2.4.6.1 Fibroblastový růstový faktor 8 (FGF8)

FGF8 (Fibroblast Growth Factor 8) je dalším potencionálně důležitým členem této rodiny. Je ve velké míře exprimován u plodu. Tento faktor je přítomen převážně v gonádách dospělých hlodavců a přežvýkavců (Buratini *et al.*, 2005; McArthur *et al.*, 1995a), je vylučován oocyty a kontroluje metabolismus buněk *cumulus oophorus* (Portela *et al.*, 2010). Dalším FGF významným při vývoji folikulů je FGF8. U dospělých myší dochází ke genové expresi téměř výhradně v oocytech (Portela *et al.*, 2010; Valve *et al.*, 1997), zatímco u skotu je mRNA detekována v thekálních a granulozních buňkách stejně jako v oocytech (Portela *et al.*, 2010; Buratini *et al.*, 2005). FGF8 je také znám jako AIGF (Androgen Induced Growth Factor, androgenem indukovaný růstový faktor) (Drummond *et al.*, 2006). FGF8 přednostně aktivuje FGFR4 a FGFR3c (Buratini *et al.*, 2005; Ornitz *et al.*, 1996). U skotu byla ve varlatech býků a vaječnících krav detekována mRNA kódující *FGFR4* nebo *FGFR3c* (Buratini *et al.*, 2005).

2.4.6.2 Fibroblastový růstový faktor 17 (FGF17)

Hoshikawa *et al.* (1998) izolovali tento 216 aminokyselin velký protein v embryu krysa a domnívají se, že FGF17 (Fibroblast Growth Factor 17) je signální molekulou při embryonálním vývoji mozku.

2.4.6.3 Fibroblastový růstový faktor 18 (FGF18)

FGF18 (Fibroblast Growth Factor 18) je exprimován v oocytech myši. V oocytech skotu nebyl detekován (Portela *et al.*, 2010). FGF18, FGF2 a FGF9 hrají roli při vývoji gonád a pohlavní diferenciaci (Portela *et al.*, 2010; Koike & Noumura, 1994; Cotton *et al.*, 2008; Cory *et al.*, 2007).

2.4.7 FGF9 podrodina

2.4.7.1 Fibroblastový růstový faktor 9 (FGF9)

FGF9 (Fibroblast Growth Factor 9) je exprimován převážně v thekálních buňkách a stimuluje sekreci progesteronu z granulózničních buněk (Portela *et al.*, 2010; Drummond *et al.*, 2007). Ve velké míře je FGF9 exprimován u embryí a plodů, např. v srdeční tkáni (Drummond *et al.*, 2007; Colvin *et al.*, 1999; Mandon-Pepin *et al.*, 2003) a bylo prokázáno, že se současně podílí na determinaci samčího pohlaví (Drummond *et al.*, 2007; Colvin *et al.*, 2001). Může regulovat procesy SRY (sex determinující faktor na Y chromozomu), jako např. mezenchymální proliferaci a mezonefrickou migraci do gonád nebo diferenciaci Sertoliho buněk (Drummond *et al.*, 2007; Colvin *et al.*, 2001).

2.4.7.2 Fibroblastový růstový faktor 16 (FGF16)

K expresi *FGF16* (Fibroblast Growth Factor 16) dochází v srdeční tkáni v pozdějších fázích embryonálního vývoje u dospělých jedinců v embryonálních hnědých adipocytech myši a krysa (Chapman *et al.*, 2006; Miyake *et al.*, 1998; Konishi *et al.*, 2000; Sontag & Cattini, 2003; Lavine *et al.*, 2005). Exprese *FGF16* je

u myši a kuřat omezena na určitou oblast během raných fází vývoje vnitřního ucha (Hatch *et al.*, 2009; Wright *et al.*, 2003; Chapman *et al.*, 2006).

2.4.7.3 Fibroblastový růstový faktor 20 (FGF20)

FGF20 (Fibroblast Growth Factor 20) byl poprvé izolován jako 212 aminokyselin dlouhý protein z mozku krysy. FGF20 patří do podrodiny FGF9, jelikož jeho struktura má 70% aminokyselinovou shodu s FGF9 a 62% shodu aminokyselin stejnou s FGF16. Lidský FGF20 je velmi podobný krysímu FGF20, se kterým má z 95 % stejnou aminokyselin aminokyselinovou shodu. Současné výsledky výzkumu ukazují na to, že FGF20 je nový neurotrofický faktor, který je přednostně exprimován v *substantia nigra* krysy ve středním mozku (Ohmachi *et al.*, 2000).

2.4.8 FGF19 podrodina

2.4.8.1 Fibroblastový růstový faktor 15/19 (FGF15/19)

FGF15 (Fibroblast Growth Factor 15) je u myši ve velké míře exprimován v ileu a funguje jako endokrinní signál v regulaci funkce jater, včetně syntézy žlučových kyselin, proliferace hepatocytů a citlivosti k inzulínu. Jeho lidský homolog je FGF19 (Fibroblast Growth Factor 19), se kterým sdílí 50% sekvenční podobnost. FGF15 funguje jako enterohepatální hormon, který je sice produkován v tenkém střevě, ale putuje do jater prostřednictvím portálního jaterního oběhu a následně se váže na svůj receptor FGFR4, který je exprimován v hepatocytech (Kong & Guo, 2011; Xie *et al.*, 1999). Aktivace FGFR4 vede k aktivaci signálních drah a výsledkem je suprese genové transkripce *Cyp7A1* genu, který kóduje cholesterol 7 α -hydroxylázu, což je limitující enzym pro syntézu žlučových kyselin v játrech (Kong & Guo, 2011; Chiang, 2009; Goetz *et al.*, 2007). FGF15 a FGF19 sehrává rozhodující roli v regulaci cholesterolu a udržení homeostázy žlučových kyselin (Kong & Guo, 2011).

2.4.8.2 Fibroblastový růstový faktor 21 (FGF21)

FGF21 (Fibroblast Growth Factor 21) představuje u myši protein dlouhý 210 aminokyselin, má hydrofobní N-konec, složený z 30 aminokyselin. FGF21 je nejvíce podobný FGF19 se 35% shodou aminokyselin. Lidský FGF21 je vysoce shodný s myším FGF21 (75% aminokyselinové shody) a jeho mRNA je přednostně exprimována v játrech (Nishimura *et al.*, 2000).

2.4.8.3 Fibroblastový růstový faktor 23 (FGF23)

Bylo prokázáno, že FGF23 (Fibroblast Growth Factor 23) představuje u lidí rozhodující cirkulující hormon podílející se na metabolismu fosfátů. Je to 251 aminokyselin dlouhý protein a jeho N-terminální oblast obsahuje FGF homologní doménu (Yokota *et al.*, 2009; Liu & Quarles, 2007). FGF23 je primárně syntetizován v kostech, ale místo jeho působení je v ledvinách (Yokota *et al.*, 2009). Hlavním zdrojem produkce FGF23 *in vivo* je osteocyt a osteoblast (Prié & Friedlander, 2010; Mirams *et al.*, 2004; Sitara *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2006). Některá kostní onemocnění jsou spojována s nadměrnou expresí mRNA v kostních buňkách (Prié & Friedlander, 2010; Liu *et al.*, 2006; Riminucci *et al.*, 2003). Exprese mRNA genu *FGF23* není omezena pouze na kostní tkáň, ale v nízké hladině je tak přítomen v játrech a ledvinách (Prié & Friedlander, 2010; Mirams *et al.*, 2004). Jednou z hlavních rolí FGF23 je kontrola rovnováhy kalciofosfátového metabolismu, a není proto překvapující, že byl identifikován i u pacientů s autozomálně dominantní hypofosfatémií nebo onkogenní osteomalácií (Prié & Friedlander, 2010).

Za primární funkci FGF23 je u lidí považována inhibice reabsorpce renální tubulární fosfatázy (Yokota *et al.*, 2009; Schiavi, 2006). Vystává mnoho otázek o úloze FGF23 v metabolismu minerálů s ohledem na známé regulátory jako PTH (parathormon) a kalcitriol (Yokota *et al.*, 2009; Gal-Moscovici & Sprague, 2007; Jurutka *et al.*, 2007). Cirkulující kalcitriol je syntetizován především renálními proximálními tubuly. Kalcitriol je také produkován autokrinními faktory mnoha tkání. Až do nedávné doby byl parathormon (PTH) hlavní identifikovaný peptid známý tím, že v ledvinách za fyziologických podmínek kontroluje syntézu kalcitriolu (Prié & Friedlander, 2010).

2.4.9. Fibroblastový růstový faktor 11, 12, 13, 14 (homologní faktory s FGF, intracelulární FGF)

Skupina FGF 11–14 je nazývána fibroblastovými homologními faktory nebo intracelulární FGF (iFGF; FHF, Homologous Factors) (Costa *et al.*, 2009; Powers *et al.*, 2000; Itoh & Ornitz, 2008), protože jejich struktura je podobná ostatním FGF, ačkoli některé klíčové substance pro vazbu receptoru chybí, a proto se neváží s FGFR (Beenken & Mohammadi 2009).

Homologní faktory (FHF; Homologous Factors) se označují FHF1 (FGF12), FHF2 (FGF13), FHF3 (FGF11) a FHF4 (FGF14) (Nishimura *et al.*, 2000; Smallwood *et al.*, 1996) Zatímco se většina FGF váže na extracelulární doménu na povrchu buněk receptorovou tyrozin kinázou, FGF 11-14 jsou jedinečné tím, že nemají signální sekvenci pro sekreci a jsou schopni aktivace FGFR (Costa *et al.*, 2009; Smallwood *et al.*, 1996; Olsen *et al.*, 2003).

FHF jsou intracelulární modulatory Na^+ iontů a jsou spojovány s neurodegenerativními onemocněními. *FHF 1 – FHF4* mRNA byla ve velké míře exprimována u vyvíjejícího se mozku myši (Hoshikawa *et al.*, 1998; Smallwood *et al.*, 1996). Mutace *FHF* způsobují u myši mnoho neurologických abnormalit a u lidí jsou implikovány v cerebrální ataxii (Goldfarb, 2005; Beenken & Mohammadi, 2009).

2.4.9.1. Fibroblastový růstový faktor 13 (FGF13)

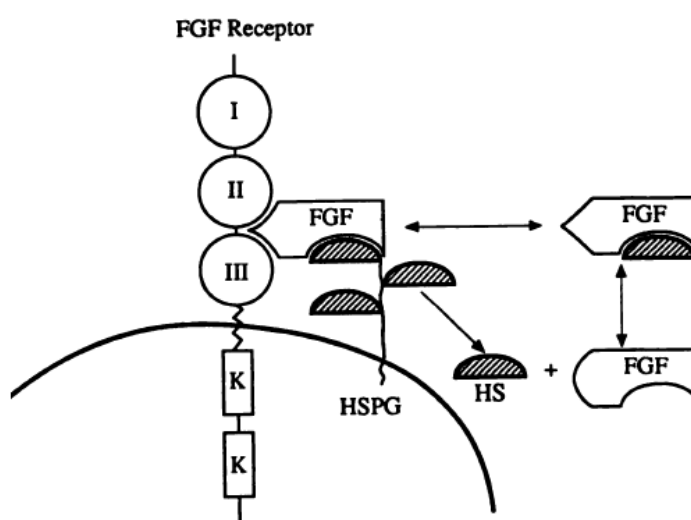
FGF13 (Fibroblast Growth Factor 13) je exprimován ve vlasových folikulech. Zajímavé je, že exprese byla prokázána také v mezenchymu zubů (DeStefano *et al.*, 2013; Kettunen *et al.*, 2011), což jsou místa patologie pro X-vázanou hypertrichózu. Pacienti postižení tímto onemocněním mají anomálie zubů a patra, což může naznačovat potencionální roli tohoto genu v odontogenezi (DeStefano *et al.*, 2013). FGF13 (FHF2) je dominantní FHF přítomný ve ventrikulárních myocytech myši (Wang *et al.*, 2011). Transkripty byly již dříve identifikovány v srdeční tkáni embryí i dospělých myši (Wang *et al.*, 2011; Munoz-Sanjuan *et al.*, 2000).

2.4.9.2. Fibroblastový růstový faktor 14 (FGF14)

FGF14 (Fibroblast Growth Factor 14) reguluje synaptický přenos z granulóznic buněk k Purkyňovým buňkám (Yan *et al.*, 2013).

2.5. FGF signalizace

FGF signalizace je zprostředkována prostřednictvím interakce s vysoce afinním transmembránovým receptorem projevujícím se vlastní tyroidkinázovou aktivitou (Jackson *et al.*, 1997; Jaye *et al.*, 1992; Johnson & Williams, 1993). Tyto receptory jsou aktivovány dimerizací, která vyžaduje přítomnost ligandu s níže afinním receptorem jako je heparansulfátproteoglykan (obr. 5) (Ornitz *et al.*, 1992b, Ornitz & Leder, 1992). FGF receptory (FGFR1–FGFR4) kódují cytoplazmatickou tyroidní kinázovou doménu, která představuje extracelulární oblast složenou ze dvou (β forma) nebo tří (α forma) imunoglobulinu podobných domén, a to v závislosti na výběru místa sestřihu. Nezbytným mechanismem pro regulaci FGF aktivity je vazebná specifita receptoru. Specifita je určena rozdíly mezi jednotlivými sekvencemi FGFR alternativním sestřihem (Ornitz *et al.*, 1996).



Obr. 5: Aktivace receptoru (FGFR) dimerizací za přítomnosti ligandu (FGF) a níže afinního receptoru (HS). FGFR – receptor fibroblastového růstového faktoru, FGF – fibroblastový růstový faktor, HS – heparansulfát, HSPG – heparansulfátproteoglykan. (Givol & Yayon, 1992)

2.6. Interferon- τ

Fibroblastové růstové faktory (FGF) jsou zapojeny do regulace exprese interferonu- τ . FGF2 reguluje expresi interferonu- τ , který je klíčovým členem signální dráhy týkající se mléčné produkce (Wang *et al.*, 2008). Předchozí výzkumy některých genů interferonu- τ (IFN τ) a signálních drah placentárního laktogenu byly spojeny s mléčnou produkcí, zdravím a plodností u dojeného skotu (Wang *et al.*, 2008; Leonard *et al.*, 2005; Cobanoglu *et al.*, 2006; Khatib *et al.*, 2007a, 2008). U skotu a pravděpodobně i u jiných přežvýkavců je interferon- τ (IFN τ) zodpovědný za udržení stavu březosti omezením uvolňování prostaglandinu F $_{2\alpha}$ z endometriálního epithelia, a tak brání regresi žlutého tělíska a nástup říje (Spencer *et al.* 2004). IFN τ dráha hraje klíčovou roli v regulaci exprese genů zahrnutých v iniciaci březosti u přežvýkavců a nidaci a chrání plod před zánikem (Khatib *et al.* 2009; Martal *et al.*, 1997). Mechanismus, který používá FGF2 k regulaci IFN τ genové exprese u skotu není znám, avšak bylo zjištěno, že u stadia blastocysty skotu a u buněk trofoektodermu je FGF2 silným regulátorem produkce IFN τ (Michael *et al.*, 2006).

2.5 Metody

2.5.1 Izolace genomové DNA

Izolace DNA je založena na získání a následnému DNA od veškerých proteinů a dalších kontaminujících látek. Byla vyvinuta řada technik v různých modifikacích, např. proteinázová metoda izolace z krve (viz 5.3), izolace z tkáně, izolace z vlasu či chlupu, izolace ze spermatu, izolace z mléka, aj. (Urban, 2013a). Izolovanou DNA lze dlouhodobě uchovávat zmraženou v ethanolu, v lyofilizovaném stavu a nejčastěji ve vodném roztoku, popř. pufru. Pro potřeby PCR se uchovává DNA ve vodě při -20 °C, dlouhodobě až při -70 °C. Opakované rozmrazování negativně ovlivňuje kvalitu DNA (Knoll & Vykoukalová, 2002).

2.5.2 Izolace genomové DNA z krve pomocí "proteinázové" metody

Do eppendorfky přidáme k 50 μ l krve 500 μ l TE pufru a centrifugujeme (13 000 rpm). Následně odstraníme supernatant, čímž se získá sediment obsahující leukocyty. Postup je opakován minimálně 3x tak, aby vzorek nebyl červeně zabarven. Po provedených krocích se do eppendorfky se sedimentem leukocytů přidá lyzační směs připravená z vody, lyzačního pufru (100 μ l) a enzym proteinázy K, který hydrolyzuje kontaminující bílkoviny a štěpí DNázy, které by mohly degradovat vyizolovanou DNA a vzorek se nechá inkubovat přes noc v termostatu při 65 °C. Po vyjmutí vzorku z inkubátoru se ověřuje výtěžek vyizolované DNA na gelu pomocí elektroforézy (Urban, 2013b).

2.6 PCR (Polymerase Chain Reaction; polymerázová řetězová reakce)

PCR je rychlá a spolehlivá metoda molekulární biologie, která umožňuje replikaci nukleových kyselin. Metoda PCR byla vytvořena Kary Mulisem v roce 1983, který byl za tento objev v roce 1993 oceněn Nobelovou cenou. Metoda PCR je velmi užitečná zvláště v těch případech, kdy máme pouze omezené množství vzorku DNA, např. forenzní testování, protože dokáže z jedné nebo několika kopií DNA vytvořit miliony kopií (Gornus *et al.*, 2012). Polymerázová řetězová reakce vede k selektivní amplifikaci vybraných oblastí molekuly DNA. Pracovat můžeme s libovolným úsekem libovolné molekuly DNA za předpokladu, že známe okrajové sekvence tohoto úseku (Brown, 2007). K označení těchto vybraných oblastí DNA molekuly využíváme krátké oligonukleotidy – primery, které jsou zpravidla tvořeny 20–25 nukleotidy.

Účinnost PCR, která je dána množstvím amplifikovaných molekul vyprodukovaných během experimentu, klesá, jsou-li primery příliš dlouhé, protože v rámci reakčního cyklu v daném čase nestihne proběhnout kompletní hybridizace k templátovým molekulám. V praxi se primery delší než 30 nukleotidů téměř nepoužívají. PCR reakce proběhne pouze tehdy, pokud primery hybridizují s molekulou DNA (Brown, 2007). Důležité je, aby cílové sekvence, s nimiž primery hybridizují, byly specifické jen pro vyšetřovanou oblast a nevyskytovaly se na jiných místech genomu (Kočárek, 2004). PCR reakce se skládá z těchto komponentů:

templátová DNA, primery, dNTP (dinukleotidy), $MgCl_2$, reakční pufr, voda, DNA polymeráza.

Standardními technikami PCR lze amplifikovat fragmenty do velikosti 10 kb, ale s rostoucí délkou fragmentu účinnost amplifikace klesá a je obtížnější získat konzistentní výsledky (Brown, 2007).

Nejčastějším enzymem používaným k amplifikaci DNA je *Taq* DNA polymeráza izolovaná z bakterie *Thermus aquaticus*, ale existují i jiné enzymy, ze kterých si vybíráme podle námi požadovaných vlastností. *Thermus aquaticus* je bakterie žijící v horkých pramenech, díky čemuž je řada jejích enzymů termostabilních, což je prospěšné zvláště tehdy, chceme-li provést denaturaci DNA bez degradace enzymu při PCR. Pokud by polymeráza takové vlastnosti neměla, musel by být enzym přidáván po každém cyklu znovu.

Enzym *Taq* polymeráza katalyzuje syntézu komplementárního řetězce DNA ve směru $5' \rightarrow 3'$ a také vykazuje exonukleázovou aktivitu ve směru $5' \rightarrow 3'$. Tato polymeráza však nemá exonukleázovou aktivitu ve směru $3' \rightarrow 5'$ a v důsledku toho není schopna opravovat chyby vzniklé při amplifikaci. Výhodou tohoto enzymu je jeho vysoká aktivita (amplifikace 1000 párů bází (bp) trvá méně než minutu), nevýhodou je výskyt chyb při replikaci (přibližně 1 chyba na 10^5 až 10^6 syntetizovaných párů bází). *Taq* polymeráza se používá především k analýze přítomnosti specifických fragmentů DNA pomocí PCR až do velikosti kolem 5000 bp (Top-Bio, 2014). PCR využívá procesů denaturace, hybridizace a elongace DNA.

2.6.1 Denaturace

Dvouřetězcová DNA může být narušena vysokou teplotou nebo vysokým pH, což v obou případech vede ke vzniku jednovláknové DNA. Ta slouží jako templát pro syntézu komplementárního řetězce pomocí polymeračních enzymů (DNA polymerázy) (Gormus *et al.*, 2012). Denaturace vyšetřované DNA probíhá za působení vysokých teplot, které jsou podle různých autorů v rozmezí od 92–98°C (Brown, 2007; Gormus *et al.*, 2012). Při vysoké teplotě se rozruší páry bází a uvolní se obě jednotlivá vlákna DNA, která fungují jako templáty v dalších cyklech syntézy DNA (Brown, 2007).

3.2.2. Hybridizace (Annealing, připojení primerů)

Během hybridizace neboli anealingu dochází ke komplementárnímu nasedání primerů na zkoumanou DNA. Místa vazby primerů vymezují oblast genomu, která bude v dalších cyklech PCR amplifikována. Reakce probíhá podle různých autorů při teplotě 37–65 °C (Kočárek, 2004; Gormus *et al.*, 2012). Jestliže je teplota příliš vysoká, k hybridizaci nedochází a primery a templáty zůstávají oddělené. Pokud je však teplota příliš nízká, vznikají nesprávně spárované molekuly (Brown, 2007).

3.2.3. Elongace (syntéza DNA)

V průběhu elongace dochází k syntéze DNA. Teplota, při níž probíhá syntéza je obvykle 74 °C, což je pod optimální teplotou *Taq* polymerázy (Brown, 2007), Gormus *et al.* (2012) a Kočárek (2004) uvádějí teplotu 72 °C. Reakce probíhá v přístroji zvaném cyklér, který je zrekonstruován tak, aby bylo možné automaticky a velmi rychle měnit teplotu potřebnou pro provedení jednotlivých kroků. Do cykléru vkládáme zkumavky se směsí vyšetřované DNA, primerů, DNA-polymerázy a dNTP (Kočárek, 2004). Postup je třeba opakovat vícekrát. Provádí se obvykle 20–40 na sebe navazujících cyklů (Kočárek, 2004), což vede k syntéze několika milionů až miliardy kopií amplifikovaného fragmentu DNA (Brown, 2007).

Při každém cyklu PCR se počet řetězců DNA ve směsi zdvojnásobí, a tím se zdvojnásobí i množství templátu pro další cykly. Důsledkem toho je exponenciální amplifikace, což znamená, že z každé molekuly původního templátu bude vytvořeno 2^n kopií, kde n představuje počet proběhlých cyklů (Knoll, 2002). Během 20 cyklů amplifikace může být vytvořeno milion kopií DNA. V závěru PCR získáme směs obsahující velké množství amplifikovaných fragmentů, aby je bylo možno použít pro další vyšetření, musíme je oddělit od zbytku DNA (Kočárek, 2004). PCR produkt je analyzován nejčastěji na agarózovém gelu pomocí metody zvané gelová elektroforéza. Pokud byl nesyntetizován v dostatečném množství, tak po navázání ethidium bromidu na molekuly DNA, je ozáření ultrafialovým světlem o vlnové délce okolo 300 nm snadno vizualizován a detekován ve formě jasně viditelných proužků (Gormus *et al.*, 2012). K detekci SNP v DNA sekvenci můžeme použít klasickou PCR-RFLP metodu (Gormus *et al.*, 2012).

2.7 Elektroforéza

Výtěžnost PCR produktů se ověřuje elektroforézou v agarózovém gelu nebo např. spektrofotometrem (Brown, 2007). Elektroforéza je nejdůležitější technika na separaci nukleových kyselin. Je to fyzikálně chemická metoda pro dělení látek v elektrickém poli, kdy DNA díky záporně nabitě fosfátové skupině migruje směrem k opačně nabitě elektrodě - anodě (+ pólu) (Knoll, 2002).

Zařízení se skládá z elektroforetické vany s anodou, katodou a pufrem, vlastního držáku gelu, ve kterém bude k separaci docházet a externího zdroje stejnosměrného napětí. Rychlost pohybu studované DNA závisí jednak na jejích vlastnostech (molekulová hmotnost – velikost, elektrický náboj, prostorové uspořádání), na vlastnostech gelu, pufru a přivedeném napětí (Knoll, 2002). Čím větší molekula, tím prochází gelem pomaleji a zastaví se blíže k nanesenému vzorku v jamce.

Po obarvení ethidium bromidem (EtBr) se PCR produkt objeví jako fragmenty DNA; pokud je výtěžek DNA nízký, produkt detekujeme pomocí Southern blottingu.

Vizualizace pomocí ethidium bromidu je nejpoužívanější metoda barvení agarózových gelů, využívající vlastnosti fluorescenční molekuly EtBr vmezeřovat se do vlákna nukleových kyselin (Knoll, 2002).

Nejpoužívanějším elektroforetickým pufrem je trisacetátový pufr (TAE). Je pufrační kapacita je však nízká. Je vhodný pro větší fragmenty DNA. Dále se používá pufr trisborátový (TBE), který má lepší pufrační schopnost než TAE, je vhodná pro menší fragmenty (Knoll, 2002).

2.8 PCR-RFLP (PCR-analýza délky restrikčních fragmentů; RFLP-Restriction Fragment Length Polymorphism; PCR-analýza délky restrikčních fragmentů)

PCR-RFLP je technika založená na rozdílnosti míst štěpení restrikčními enzymy na DNA. Restrikční endonukleázy jsou specifické enzymy, které rozpoznají a štěpí specifické nukleotidové sekvence. Díky jejím vlastnostem je možné rozlišit

změny nukleotidů v DNA (Gormus *et al.*, 2012). DNA je restrikčními enzymy rozštěpána na části a výsledné fragmenty jsou separovány podle jejich délky na gelové elektroforéze (Gormus *et al.*, 2012). Vizualizace DNA se provádí pomocí ethidium bromidu. Výhodou metody je její nenáročnost a možnost určení např. místa mutace. Mezi nevýhody patří to, že pravděpodobnost detekce mutace nebo polymorfizmu je relativně nízká a závisí na počtu použitých enzymů (Knoll, 2002).

Princip metody spočívá v tom, že na PCR produkt aplikujeme restrikční endonukleázu, a tak zjistíme přítomnost restrikčních míst na amplifikovaném úseku templátové DNA (Brown, 2007).

3 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

- 1) Zjistit genotypové složení populace býků holštýnského skotu v polymorfizmu *FGF2* genu.
- 2) Zjistit vztah tohoto polymorfizmu k ukazatelům mléčné užitkovosti k plemenným hodnotám pro znaky mléčné užitkovosti u holštýnského skotu.
- 3) Zjistit vztah tohoto polymorfizmu k plemenným hodnotám plodnosti holštýnského skotu.

4 ZÁVĚR

Závěrem této studie lze říci, že polymorfismus *FGF2* genu nejeví výrazný vztah k mléčné užitkovosti holštýnského plemene skotu u linie NEA ani NXA, což potvrdila i většina předchozích studií. Signifikantně významné asociace byly prokázány pouze Wangem *et al.* (2008) mezi *FGF2* variantami k množství tuku a procentu mléčného tuku u dvou populací holštýnského plemene (USA, Wisconsin; Izrael). Polymorfismus *FGF2* genu tedy pravděpodobně nebude mít významné využití v šlechtitelském programu za účelem zlepšení mléčné produkce dojeného skotu.

Gen *FGF2* má však statisticky průkazný vliv na plodnost krav a plemenic holštýnského plemene linie NXA. Tento vliv nebyl ovšem statisticky průkazný u jalovic obou linií a u plodnosti krav a plemenic u linie NEA. SNP 11646 *FGF2* genu by mohl být využitelný jako kritérium v gen asistované selekci pro zvýšení plodnosti dojeného skotu holštýnského plemene, avšak před jeho zavedením jakožto selekčního kritéria v šlechtitelském programu je potřeba dalšího navazujícího výzkumu.

5 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

- 1) **Abdel-Azim, G., Freeman, A. E. (2002):** Superiority of QTL-assisted selection in dairy cattle breeding schemes, *J. Dairy Sci.* 85: 1869–1880.
- 2) **Allerstorfer, S., Sonvilla, G., Fischer, H., Spiegl-Kreinecker, S., Gaughhofer, C., Setinek, U., Czech, T., Marosi, C., Buchroithner, J., Pichler, J., Silye, R., Mohr, T., Holzmann, K., Grasl-Kraupp, B., Marian, B., Grusch, M., Fischer, J., Micksche, M., Bergerm W. (2008):** FGF5 as an oncogenic factor in human glioblastoma multiforme: autocrine and paracrine activities. *Oncogene.* 27: 4180-4190.
- 3) **Allouche, M., Bikfalvi, A. (1995):** The role of fibroblast growth factor-2 in hematopoiesis. *Prog Growth Factor Res.* 6: 35–48.
- 4) **Arman, E., Haffner-Krausz, R., Chen, Y., Heath, J. K., Lonai, P. (1998):** Targeted disruption of fibroblast growth factor (FGF) receptor 2 suggests a role for FGF signaling in pregastrulation mammalian development. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA.* 95: 5082-5087.
- 5) **Arnaud, E., Touriol, Ch., Boutonnet, Ch., Gensac, M., Vagner, S., Prats, H., Prats, A. (1999):** A New 34-Kilodalton Isoform of Human Fibroblast Growth Factor 2 Is Cap Dependently Synthesized by Using a Non-AUG Start Codon and Behaves as a Survival Factor. *Molecular and Biology.*19: 505-514.
- 6) **Ashwell, M. S., Heynen, D., W., Weller, J. I., Soenstegaard, T. S., Van Tassell, C. P., Lewin, H. A. (2005):** Detection of quantitative trait loci influencing conformation traits and calving ease in Holstein-Friesian cattle. *J. Dairy Sci.* 88: 4111-4119.
- 7) **Baird, A. (1994):** Fibroblast growth factors: activities and significance of non-neurotrophin neurotrophic growth factors. *Curr Opin Neurobiol.* 4: 78–86.
- 8) **Basilico, C., Moscatelli, D. (1992):** The FGF family of growth factors and oncogenes. *Adv Cancer Res.* 59: 115–165.
- 9) **Beenken, A., Mohammadi, M. (2009):** The FGF family: Biology, pathophysiology and therapy. *Nat Rev Drug Discov.* 8: 235–253.
- 10) **Berisha B, Sinowatz F, Schams D. (2004):** Expression and localization of fibroblast growth factor (FGF) family members during the final growth of bovine ovarian follicles. *Mol. Reprod. Dev.* 67: 162–171
- 11) **Beyer, T. A., Werner, S., Dickson, C., Grose, R. (2003):** Fibroblast growth factor 22 and its potential role during skin development and repair. *Exp. Cell. Res.* 287: 288-236.

- 12) **Bikfalvi A., Han Z. C. (1994):** Angiogenic growth factors are hematopoietic growth factors and *vice versa*. *Leukemia* 8: 523–529
- 13) **Bikfalvi, A., Klein, S., Pintucci, G., Rifkin, D. B. (1997):** Biological Roles of Fibroblast Growth Factor-2. *Endocrine Reviews*. 18: 26-45.
- 14) **Bikfalvi, A., Klein, S., Pintucci, G., Quatro, N., Mignatti, P., Rifkin, D. B. (1995):** Differential modulation of cell phenotype by different molecular weight forms of basic fibroblast growth factor: possible intracellular signaling by the high molecular weight forms. *J. Cell Biol.* 129: 233-243.
- 15) **Blaschek, M., Kaya, A., Zwald, N., Memili, E., Kirkpatrick, B. W. (2011):** A whole-genome association analysis of noncomplensatory fertility in Holstein bulls. *Journal of Dairy Science*. 94: 4695-4699
- 16) **Boichard D., Grohs C., Bourgeois F., Cerqueira F., Faugeras R., Neau A., Rupp R., Amigues Y., Boscher M. Y., Leveziel H. (2003):** Detection of genes influencing economic traits in three French dairy cattle breeds, *Genet. Sel. Evol.* 35: 77–101.
- 17) **Böttcher, R. T., Niehrs, Ch. (2005):** Fibroblast Growth Factor Signaling during Early Vertebrate Development. *Endocrine Reviews*. 26: 63-77.
- 18) **Bradley, R. (2000):** 1000 years of climate changes. *Science* 288: 1353-1355.
- 19) **Brown, T. Klonování genů a analýza DNA: úvod.** 1. české vyd. Překlad Martin Fellner. V Olomouci: Univerzita Palackého, xviii, 389 s. ISBN 978-802-4417-196.
- 20) **Buratini Jr. J., Glapinski V. F., Giometti I. C., Teixeira A. B., Costa I. B., Avellar M. C., Barros C. M., Price C. A. (2005):** Expression of fibroblast growth factor-8 and its cognate receptors, fibroblast growth factor receptor (FGFR)-3c and-4, in fetal bovine preantral follicles. *Mol Reprod Dev* 70: 255–261.
- 21) **Buratini J. Jr., Pinto M. G., Castilho A. C., Amorin R. L., Giometti I. C., Portela V. M., Nicola E. S., Price C. A.(2007):** Expression and function of fibroblast growth factor 10 and its receptor, fibroblast growth factor receptor 2B, in bovine follicles. *Biol Reprod*, 77: 743-750.
- 22) **Burgess, W. H., Maciag, T. (1989):** The heparin binding (fibroblast) growth factor family proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 58: 575-606.
- 23) **Butler, W. R. (1998):** Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81: 2533-2539.

- 24) **Carmeliet P. (2003):** *Nat. Med.* 9: 653.
- 25) **Castellot, J. J., Wright, T. C., Karnowsky, M. (1987):** Regulation of vascular smooth muscle cell growth by heparin and heparan sulfates. *Semin. Thromb. Hemostasis.* 13: 489-503.
- 26) **Cassell, B. G. (2001):** Optimal Genetic Improvement for the High Producing Cow. *J. Dairy Sci.* 84: E144-E150.
- 27) **Cobanoglu, O., Zaitoun, I., Chang, Y. M., Shook, G. E., Khatib, H. (2006):** Effects of the signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) gene on milk production traits in Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89: 4433-4437.
- 28) **Coffin, J. D., Florkiewicz, R. Z., Neumann, J., Mort-Hopkins, T., Dorn II, G. W., Lightfoot, P., German, R., Howles, P. N., Kier, A., O'Toole, B. A., et al. (1995):** Abnormal bone growth and selective translational regulation in basic fibroblast growth factor (FGF-2) transgenic mice. *Mol. Biol. Cell* 6: 1861–1973.
- 29) **Cohn, M. J., Izpisisua-Belmonte, J. C., Abud, H., Heath, J. K., Tickle, C. (1995):** *Cell.* 80: 739-746.
- 30) **Coleman-Krnacik, S., Rosen, J. M. (1994):** Differential temporal and spatial gene expression of fibroblast growth factor family members during mousemammary gland development. *Mol. Endocrinol.* 8: 218–229.
- 31) **Colvin, J. S., Bohne, B. A., Harding, G. W., McEwen, D. G., Ornitz, D. M. (1996):** Skeletal overgrowth and deafness in mice lacking fibroblast growth factor receptor 3. *Nat. Genet.* 12, 390–397.
- 32) **Cooke, F. N. T. Pennington, K., A., Yang, Q., Ealy, A. D. (2009):** Several fibroblast growth factors are expressed during pre-attachment bovine conceptus development and regulate interferon-tau expression from trophoctoderm. *Reproduction.* 137: 259-269.
- 33) **Cory A. T, Boyer A, Pilon N, Lussier J. G., Silversides D. W. (2007):** Presumptive presertoli cells express genes involved in cell proliferation and cell signalling during a critical window in early testis differentiation. *Mol Reprod Dev.* 74: 1491–1504.
- 34) **Costa, I. B., Teixeira, N. A., Ripamonte, P., Guerra, D. M., Price, C., Buratini Jr., J. (2009):** Expression of fibroblast growth factor 13 (*Fgf13*) mRNA in bovine antral follicles and corpora lutea. *Anim. Reprod.* 6: 409-415.
- 35) **Cotton L. M., O'Bryan M. K., Hinton B. T. (2008):** Cellular signaling by fibroblast growth factors (FGFs) and their receptors (FGFRs) in male reproduction. *Endocr Rev.* 29: 193–216.

- 36) **Daniels R., Hall V., Trounson A. O. (2000):** Analysis of gene transcription in bovine nuclear transfer embryos reconstructed with granulosa cell nuclei. *Biol Reprod* 63: 1034–1040.
- 37) **Davis, M. G., Zhou, M., Ali, S., Coffin, J. D., Doetschman, T., Dorn II, G. W (1997):** Intracrine and autocrine effects of basic fibroblast growth factor in vascular smooth muscle cells. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 29: 1061-1072.
- 38) **Daw, E. W., Health, S. C., Lu, Y. (2005):** Single-nucleotide polymorphism versus microsatellite markers in a combined linkage and segregating analysis of a quantitative trait. *BMC Genet.* 6: S32.
- 39) **Dekkers, J. C. M., Ten Hag, J. H., Weersink, A. (1998):** Economic aspects of persistency of lactation in dairy cattle. *Livestock Prod. Sci.*53: 237-252.
- 40) **Delrieu, I. (2000):** *FEBS Lett.* 468: 6-10.
- 41) **Deng, C., Wynshaw-Boris, A., Zhou, F., Kuo, A. & Leder, P.(1996):** *Cell* 84: 911–921.
- 42) **DeStefano, G. M., Fantauzzo, K. A., Petukhova, L., Kurban, M., Tadin-Strapps, M., Levy, B., Warburton, D., Cirulli, E. T., Han, Y., Sun, Y., Shen, Y., Shirazi, M., Jobanputra, V., Cepeda-Valdes, R., Salas-Alanis, J. C., Christiano, A. M. (2013):** Position effect on *FGF13* associated with X-linked congenital generalized hypertrichosis. *PNAS.* 110: 7790-7795.
- 43) **Dobson, H., S. L. Walker, M. J. Morris, J. E. Routly, and R. F. Smith.(2007):** Why is it getting more difficult to successfully artificially inseminate dairy cows? *Animal* 2: 1104–1111.
- 44) **Dransfield, M. B., Nebel, R. L., Pearson, R. E., Warnick, L. D. (1998):** Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *J. Dairy Sci.* 81: 1874-1882.
- 45) **Driver, A. M., Huang, W., Gajic, S., Monson, R. L., Rosa, G. J. M., Khatib, H. (2009):** Short communication: Effects of the progesterone receptor variants on fertility traits in cattle. *Journal of Dairy Science.* 92: 4082-4085.
- 46) **Drogemuller, C., Rufenacht, S., Wichert, B., Leeb, T. (2007):** Mutations within the *FGF5* gene are associated with hair length in cats. *Anim. Genet.* 38: 218-221.
- 47) **Druet, T., Fritz, S., Boussaha, M., Ben-Jemaa, S., Guillaume, F., Derbala, D., Zelenika, D., Lechner, D., Charon, C., Boichard, D., Gut,**

- I. G., Eggen, A., Gautier, M. (2008):** Fine Mapping of Quantitative Trait Loci Affecting Female Fertility in Dairy Cattle on BTA03 Using a Dense Single-Nucleotide Polymorphism Map. *Genetics*. 178: 2227-2235.
- 48) **Drummond, A. E., Tellbach, M., Dyson, M., Findlay, J. K. (2007):** Fibroblast Growth Factor-9, a Local Regulator of Ovarian Function . *Endocrinology*. 148: 3711-3721.
- 49) **Fallon JF, Lopez A, Ros MA, Savage MP, Olwin BB, Simandl BK. (1994):** FGF-2: apical ectodermal ridge growth signal for chick limb development. *Science* 264: 104–107.
- 50) **Feldman, B., Poueymirou, W., Papaioannou, V. E., DeChiare, T. M. & Goldfarb, M. (1995):** *Science* 167: 246-249.
- 51) **FGF3 - fibroblast growth factor 3.** *Genetics Home Reference* [online]. 2012, listopad 2012 [cit. 2014-03-24]. Dostupné z: <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/FGF3>
- 52) **Flamme, I., Risau, W. (1992):** *Development (Cambridge, U.K.)*116: 435–439.
- 53) **Folkman, J. (1995):** *Nat. Med.* 1: 27–31.
- 54) **Fukushima, N., Nagashima, K., Kuroume, T. (1994):** Fibronectin synthesis bioactivity in human breast milk. *Biol.Neonate*. 65:77.
- 55) **Gal-Moscovici, A., Sprague, S. M. (2007):** Role of vitamin D deficiency in chronic kidney disease. *J. Bone. Miner. Res.* 22: V91-4.
- 56) **Gaubert, F., Escaffit, F., Bertrand, C., Korc, M., Pradayrol, L., Clemente, F., Estival, A. (2001):** Expression of the High Molecular Weight Fibroblast Growth Factor-2 Isoform of 210 Amino Acids Is Associated with Modulation of Protein Kinases C δ and ϵ and ERK Activation. *J. Biol. Chem.* 276: 1545-1554.
- 57) **Gautier, M., Faraut, T., Moazami-Goudarzi, K., Navratil, V., Foglio, M. (2007):** Genetic and haplotypic structure in 14 European and African cattle breeds. *Genetics*. 177: 1059-1070.
- 58) **Givol, D., Yayon, A. (1992):** Complexity of FGF receptors: genetic basic for structural diversity and functional specificity. *The FASEB Journal*. 6: 3362-3369.
- 59) **Goetz, R., Beenken, A., Ibrahimi, O. A., Kalinina, J., Olsen, S. K., et al. (2007):** Molecular insight into the klotho-dependent, endocrine mode of action of fibroblast growth factor 19 subfamily members. *Mol. Cell. Biol.* 27: 3417-3428.

- 60) **Goldfarb, M. (2005):** Fibroblast Growth Factor Homologous Factors: Evolution, Structure, and Function. *Cytokine Growth Factor Rev.* 16: 215-220.
- 61) **Gormus, U., Selvi, N., Yaylim-Eraltan, I. (2012):** PCR-RFLP and Real-Time PCR TEchniques in Molecular Cancer Investigations, Polymerase Chain Reaction, ISBN: 978-953-51-0612-8. 555-566., Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/polymerase-chain-reaction/pcrrflp-and-real-time-pcr-techniques-in-molecular-cancer-investigation>
- 62) **Grazul-Bilska, A. T., Redmer, D. A., Jablonka-Shariff, A., Biondini, M. E., Reynolds, L. P. (1995):** Proliferation and progesterone production of ovine luteal cells from several stages of the estrous cycle: effects of fibroblast growth factors and luteinizing hormone. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 73: 491–500.
- 63) **Groth, C., Lardelli, M. (2002):** Zhe structure and function of vertebrate Fibroblast Growth Factor Receptor 1. *Int. J. Dev. Biol.* 46: 393-400.
- 64) **Gospodarowicz, D., Plouet, J., Fujii, D. K. (1989):** Ovarian germinal epithelial cells respond to basic fibroblast growth factor and express its gene: implications for early folliculogenesis. *Endocrinology.* 125: 1266–1276.
- 65) **Guillaume, F., Gautier, M., Ben-Jemaa, S., Fritz, S., Eggen, A, et al. (2007):** Refinement of two female fertility QTL using alternative phenotypes in French Holstein dairy cattle. *Anim. Genet.* 38: 72-74.
- 66) **Guthridge, M., Bertolini, J., Cowling, J., Hearn, M. T. (1992):** Localization of bFGF mRNA in cyclic rat ovary, diethylstilbesterol primed rat ovary, and cultured rat granulosa cells. *Growth Factors.* 7: 15–25.
- 67) **Haile-Miriam, M., Bowman, P. J., Goddard, M. E. (2003):** Genetic and environmental relationship among calving interval, survival, persistency of milk yield and somatic cell count in dairy cattle. *Livestock Prod. Sci.* 80: 189-200.
- 68) **Haimovici, F., Hill, J. A., Anderson, D. J. (1991):** The effects of soluble products of activated lymphocytes and macrophages on blastocyst implantation events in vitro. *Biology of Reproduction.* 44: 69–75.
- 69) **Hatch, E. P., Urness, L. D., Mansour, S. L. (2009):** *Fgf16*^{IRESCre} mice: A tool to inactivate genes expressed in inner ear cristae and spiral prominence epithelium. *Dev. Dyn.* 238: 358-366.
- 70) **Haub, O., Drucker, B., Goldfarb, M. (1990):** Expression of the murine fibroblast growth factor 5 gene in the adult central nervous systém. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 87: 8022-8026.

- 71) **Haub, O., Goldfarb, M. (1991):** Expression of the fibroblast growth factor-5 gene in the mouse embryo. *Development*. 112: 397-406.
- 72) **Herbert, J. M., Rosenquist, T., Gotz, J., Martin, G. R. (1994):** *FGF5* as a regulator of the hair growth cycle: evidence from targeted and spontaneous mutations. *Cell*. 78: 1017-1025.
- 73) **Hinds, D. A., Stuve, L. L., Nilsen, G. B., Halperin, E., Eskin, E., Ballinger, G., Frazer, K. A., Cox, D. R. (2005):** Whole genome patterns of common DNA variation in three human populations. *Science*. 307: 1072-1079.
- 74) **Hironaka, T., Ohishi, H., Masaki, T. (1997):** Identification and Partial Purification of Basic Fibroblast Growth Factor-Like Growth Factor Derived from Bovine Colostrum. *Journal of Dairy Science*. 80: 488-495.
- 75) **Hoshi, H., Konno, S., Kikuchi, M., Sendai, Y., Satoh, T. (1995):** Fibroblast growth factor stimulates the gene expression and production of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in bovine granulosa cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 31:559–563
- 76) **Hoshikawa, M., Ohbayashi, N., Yonamine, A., Konishi, M., Ozaki, K., Fukui, S., Itoh, N. (1998):** Structure and expression of a novel fibroblast growth factor, FGF-17, preferentially expressed in the embryonic brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 244: 187-191.
- 77) **Hou, J., Kan, M., McKeehan, K., McBride, G., Adams, P., McKeehan, W. L. (1991):** Fibroblast Growth Factor Receptors from Liver Vary in Three Structural Domains. *Science*. 251: 665-668.
- 78) **Housley, D. J., Venta, P. J. (2006):** The long and the short of it: evidence that *FGF5* is a major determinant of canine hair-itability. *Anim. Genet*. 37: 309-325.
- 79) **Hrabe, D. A., Grundker, C., Herrmann, B. G., Kispert, A., Kirchner, C. (1995):** Promotion of gastrulation by maternal growth factor in cultured rabbit blastocysts. *Cell and Tissue Research*. 282: 147–154.
- 80) **Hynes, N. E., Watson, Ch. J. (2010):** Mammary Gland Growth Factors: Roles in Normal Development and in Cancer. *Cold Spring Harb Perspectives in Biology*.
- 81) **Chang, Y. M., Andersen-Ranberg, I. M., Heringstad, B., Gianola, D., Klemetsdal, G. (2006):** Bivariate analysis of number of services to conception and days open in Norwegian Red using a censored threshold-linear model. *J. Dairy Sci*. 89: 772-778.

- 82) **Chapman, S. C., Cai, Q., Bleyl, S. B., Schoenwolf, G. C. (2006):** Restricted expression of Fgf16 within the developing chick inner ear. *Dev. Dyn.* 235: 2276-2281.
- 83) **Charakteristika holštýnského skotu.** [Http://www.genoservis.cz/cz/](http://www.genoservis.cz/cz/) [online]. [cit. 2014-04-20]. Dostupné z:<http://www.genoservis.cz/cz/skot/charakteristika-holstynskeho-skotu/>
- 84) **Chen, Z., Wang, Z., Xu, S., Zhou, K., Yang, G. (2013):** Characterization of hairless (*Hr*) and *FGF5* genes provides insight into the molecular basis of hair loss in cetaceans. *BMC Evolutionary Biology.* 13: 34.
- 85) **Chiang, J. Y. (2009):** Bile acids: regulation of synthesis. *J. Lipid. Res.* 50: 1955-1966.
- 86) **Iozzo, R. (1988):** Cell surface heparan sulfate proteoglycan and the neoplastic phenotype. *J. Cell Biochem.* 37:61-78.
- 87) **Itoh, N., Ornitz, D. M. (2004):** Evolution of the Fgf and Fgfr gene families. *Trends Genet.* 20: 563–569.
- 88) **Itoh, N., Ornitz, D. M. (2008):** Functional evolutionary history of the mouse Fgf gene family. *Dev. Dyn.* 237: 18-27.
- 89) **Jackson, D., Bresnick, J., Rosewell, I., Crafton, T., Poulson, R., Stamp, G., Dickson, C. (1997):** Fibroblast growth factor recetrop signalling has a role in lobuloalveolar development of the mammary gland. *Journal of Cell Science.* 110: 1261-1268.
- 90) **Jarosz, M., Robbez-Masson, L., Chioni, A., Cross, B., Rosewell, I., Grose, R. (2012):** Fibroblast Growth Factor 22 Is Not Essencial for Skin Development and Repair but Plays a Role in Tumorigenesis. *PLoS ONE.* 7: 1-12.
- 91) **Jaye, M., Schlessinger, J., Dionne, C. (1992):** Fibroblast growth factor receptor for acidic and basic fibroblast growth factors. *Biochim Biophys Acta* 1135: 185–199.
- 92) **Johnson, D. E., Lu, J., Chen, H., Werner, S., Williams, L. T. (1991):** The human fibroblast growth factor receptor genes: a common structural arrangement underlies the mechanisms for generating receptors forms that differ in their third domain. *Mol. Cell. Biol.* 11: 4627-4634.
- 93) **Johnson, D. E., Williams, L. T. (1993):** Structural and functional diversity in the FGF receptor multigene family. *Adv. Cancer Res.* 60: 1-41.
- 94) **Jurutka, P. W., Bartik, L., Whitfield, G. K., et al. (2007):** Vitamin D receptor: key roles in bone mineral pathophysiology, molecular

mechanism of action, and novel nutritional ligands. *J. Bone Miner. Res.* 22: V2-10.

- 95) **Kandel, J., E. Bossy-Wetzel, F. Radvanyi, M. Klagsbrun, J. Folkman, and D. Hanahan. (1991):** Neovascularisation is associated with a switch to the export of bFGF in the multistep development of fibrosarcoma. *Cell.* 66: 1095–1104.
- 96) **Kehler, J. S., David, V. A., Schaffer, A. A., Bajema, K., Eizirik, E., Ryugo, D. K., Hannah, S. S. O'Brien, S. J., Menotti-Raymond, M. (2007):** Four independent mutations in the feline fibroblast growth factor 5 gene determine the long-haired phenotype in domestic cats. *J. Hered.* 98: 555-566.
- 97) **Kettunen, P., Furmanek, T., Chaulagain, R., Kvinnsland, I. H., Luukko, K. (2011):** Developmentally regulated expression of intracellular Fgf11-13, hormone-like Fgf15 and canonical Fgf16, -17 and -20 mRNAs in the developing mouse molar tooth. *Acta Odontol. Scand.* 69: 360-366.
- 98) **Kirihara, O., Ohishi, H. (1995):** Functional proteins in bovine milk. *Jpn. J. Dairy Food Sci.* 44:9.
- 99) **Khatib, H., Huang, W., Wang, X., Tran, A. H., Bindrim, A. B., Schutzkus, V., Monson, R. L., Yandell, B. S. (2009):** Single gene and gene interaction effects on fertilization and embryonic survival rates in cattle. *Journal of Dairy Science.* 92: 2238-2247.
- 100) **Khatib, H., Maltecca, C., Monson, R. L., Schutzkus, V., Wang, X., Rutledge, J. J. (2008):** The fibroblast growth factor 2 gene is associated with embryonic mortality in cattle. *J. Anim. Sci.* 86: 2063-2067.
- 101) **Khatib, H., Monson, R. L., Huang, W., Khatib, R., Schutzkus, V., Khateeb, H., Parrish, J. J. (2010):** Short communication: Validation of in vitro fertility genes in a Holstein bull population. *Journal of Dairy Science.* 93: 2244-2249.
- 102) **Khatib, H, Monson, R. L., Schutzkus, V., Kohl, D. M., Rosa, G. J. M., Rutledge, J. J. (2008):** Mutations in the *STAT5A* gene are associated with embryonic survival and milk composition in cattle. *J. Dairy Sci.* 91: 784-793.
- 103) **Khatib, H., Schutzkus, V., Chang, Y. M., Rosa, G. J. M. (2007a):** Pattern of expression of the uterine milk protein gene and its association with productive life in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 90: 2427-2433.
- 104) **Khatkar, M. S., Thomson, P. C., Tammen, I., Raadsma, H. W. (2004):** Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: review and meta-analysis. *Genetics Selection Evolution.* 36: 163-190.

- 105) **Khatkar, M. S., Thomson, P. C., Tammen, I., Cavanagh, J. A., Nicholas, F. W. (2006):** Linkage disequilibrium on chromosome 6 in Australian Holstein-Friesian cattle. *Genet. Sel. Evol.* 38:463-477.
- 106) **Khatkar, M. S., Zenger, K. R., Hobbs, M., Hawken, R. J., Cavanagh, J. A. L., McClintock, A. E., McClintock, S., Thomson, P. C., Tier, B., Nicholas, F. W., Raadsma, H. W. (2007):** A Primary Assembly of a Bovine Haplotype Block Map Based on a 15,036-Single-Nucleotide Polymorphism Panel Genotyped in Holstein-Friesian Cattle. *Genetics.* 176: 763-772.
- 107) **Kiefer, M. C., Stephans, J.C., Crawford, K., Okino, K., Barr, P.J. (1990):** Ligand-affinity cloning and structure of a cell surface heparan sulfate proteoglycan that binds basic fibroblast growth factor. 87: 6985-6989.
- 108) **Kirihara, O., Ohishi, H. (1995):** Functional proteins in bovine milk. *Jpn. J. Dairy Food Sci.* 44: 9.
- 109) **Koike S, Noumura T. (1994):** Cell- and stage-specific expression of basic FGF in the developing rat gonads. *Growth Regul.* 4: 77–81.
- 110) **Kolbehdari, D., Wang, Z., Grant, J. R., Murdoch, B., Prasad, A., Xiu, Z., Marques, E., Stothard, P., Moore, S. S. (2008):** A Whole-Genome Scan to Map Quantitative Trait Loci for Conformation and Functional Traits in Canadian Holstein Bulls. *J. Dairy Sci.* 91: 2844-2856.
- 111) **Komi-Kuramochi, A., Kawano, M., Oda, Y., Asada, M., Suzuki, M, et al. (2005):** Expression of fibroblast growth factors and their receptors during full-thickness skin wound healing in young and aged mice. *J. Endocrinol.* 186: 273-289.
- 112) **Knoll, A., Vykoukalová, Z. Molekulární genetika zvířat: (metody detekce polymorfizmů DNA genů).** Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2002, 100 s. ISBN 80-715-7616-6.
- 113) **Kočárek, E. Genetika: obecná genetika a cytogenetika, molekulární biologie, biotechnologie, genomika.** 1. Vyd. Praha: Scientia, 2004, 211 s. ISBN 80-7183-326-6
- 114) **Konishi, M., Mikami, T., Yamasaki, M., Miyake, A., Itoh, N. (2000):** Fibroblast growth factor-16 is a growth factor for embryonic brown adipocytes. *J. Biol. Chem.* 275: 12119-12122.
- 115) **Kotlín. R., Dyr, J. E. (2008):** Fibrinogen. *Chemické Listy.* 102: 238-244.

- 116) **Kong, B., Guo, G. L. (2011):** Enhanced In Vitro Refolding of Fibroblast Growth Factor 15 with the Assistance of SUMO Fusion Partner. *PLoS ONE*. 6: 1-7.
- 117) **Kuhn C., Bennewitz J., Reinsch N., Xu N., Thomsen H., Looft C., Brockmann G.A., Schwerin M., Weimann C., Hiendleder S., Erhardt G., Medjugorac I., Forster M., Brenig B., Reinhardt F., Reents R., Russ I., Averdunk G., Blumel J., Kalm E. (2003):** Quantitative trait loci mapping of functional traits in the German Holstein cattle population, *J. Dairy Sci.* 86: 360–368.
- 118) **Kumar, M., Chapman, S. C. (2012):** Cloning and expression analysis of *Fgf5*, 6 and 7 during early chick development. *Gene Expr. Patterns*. 12: 245-253.
- 119) **Kurosu, H., Choi, M., Ogawa, Y., Dickson, A. S., Goetz, R., Eliseenkova, A. V., Mohammadi, M., Rosenblatt, K. P., Klierer, S. A., Kuro-o, M. (2007):** Tissue-specific expression of β Klotho and fibroblast growth factor (FGF) receptor isoforms determines metabolic activity of FGF19 and FGF21. *J. Biol. Chem.* 282: 26687-26695.
- 120) **Kurosu, H., Ogawa, Y., Miyoshi, M., Yamamoto, M., Nandi, A., Rosenblatt, K. P., Baum, M. G., Schiavi, S., Hu, M. C., Moe, O. W., et al. (2006):** Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho. *J. Biol. Chem.* 281: 6120-6123.
- 121) **Lamming, G. E., Darwash, A. O. (1998):** The use of milk progesterone profiles to characterise components of subfertility in milked dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 52: 175-190.
- 122) **Larson, R. C., Ignatz, G. G., Currie, W. B. (1992):** Transforming growth factor β and basic fibroblast growth factor synergistically promote early bovine embryo development during the fourth cell cycle. *Mol. Reprod. Dev.* 33: 432-435.
- 123) **Lavine, K. J., Yu, K., White, A. C., Zhang, X., Smith, C., Partanen, J., Ornitz, D. M. (2005):** Endocardial and epicardial derived FGF signals regulate myocardial proliferation and differentiation in vivo. *Dev. Cell.* 8: 85-95.
- 124) **Lavranos, T. C., Rodgers, H. F., Bertoncello I, Rodgers RJ. (1994):** Anchorage-independent culture of bovine granulosa cells: the effects of basic fibroblast growth factor and dibutyryl cAMP on cell division and differentiation. *Exp Cell Res* 211: 245–251.
- 125) **Lazzari G, Wrenzycki C, Herrmann D, Duchi R, Kruij T, Niemann H, Galli C. (2002):** Cellular and molecular deviations in bovine in vitro-

produced embryos are related to the large offspring syndrome. *Biol Reprod* 67: 767–775.

- 126) **Leonard, S., Khatib, H., Schutzkus, V., Chang, Y. M., Maltecca, C. (2005):** Effects of the osteopontin gene variants on milk production traits in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 88: 4083-4086.
- 127) **Lew, E. D., Furdui, C. M., Anderson, K. S., Schlessinger, J. (2009):** The precise sequence of FGF receptor autophosphorylation is kinetically driven and is disrupted by oncogenic mutations. *Sci Signal* 2: ra6.
- 128) **Lim, J. M., Hansel, W. (1996):** Roles of growth factors in the development of bovine embryos fertilized in vitro and cultured singly in a defined medium. *Reprod. Fertil. Dev.* 8: 1199-1205.
- 129) **Lindholm, D., Harikka, J., da Penha Berzaghi, M., Castren, E., Tzimagiorgis, G., Hughes, R. A., et al. (1994):** Fibroblast growth factor-5 promotes differentiation of cultured rat septal cholinergic and raphe serotonergic neurons: comparison with the effects of neurotrophins. *Eur. J. Neurosci.* 6: 244-252.
- 130) **Liu, S., Quarles, L. D. (2007):** How fibroblast growth factor 23 works. *J. Am. Soc. Nephrol.* 18: 1637-1647.
- 131) **Liu, S., Zhou, J., Tang, W., Jiang, X., Rowe, D. W., Quarles, L. D. (2006):** Pathogenic role of Fgf23 in Hyp mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 291: E38-E49.
- 132) **Logan, A., Frautschy, A. S., Baird, A. (1991):** Basic fibroblast growth factor and central nervous system injury. *Ann NY Acad Sci USA* 63: 474–476.
- 133) **López-Gatius, F. (2003):** Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain. *Theriogenology* 60: 89–99.
- 134) **Lucy, M. C. (2001):** Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will It End? *J. Dairy Sc.* 84: 1277-1293.
- 135) **Machado, M., Portela, V., Price, C., da Costa, I., Ripamonte, P., Amorim, R., Buratini, J. J. (2009):** Regulation and action of fibroblast growth factor 17 in bovine follicles. *J. Endocrinol.* 202: 347-353.
- 136) **Macmillan, K. L., Lean, I. J., Westwood, C. T. (1996):** The effects of lactation on the fertility of dairy cows. *Aus. Vet. J.* 73: 141-147.
- 137) **Makris, A., Tricoli, J. V., Lynch, P., Ryan, K. J. (1989):** Western blot analysis of porcine corpus luteum heparin binding proteins using antibodies to acidic and basic fibroblast growth factor. *Mol Cell Endocrinol* 67: 165–172.

- 138) **Mandon-Pepin, B., Oustry-Vaiman, A., Vigier, B., Piumi, F., Cribiu, E., Cotinot, C. (2003):** Expression profiles and chromosomal localization of genes controlling meiosis and follicular development in the sheep ovary. *Biol. Reprod.* 68: 985-995.
- 139) **Manga, I. (2007):** Polymorfizmus β -kazeinu u skotu – selekce na A2 alelu. *Náš chov.* 4: 50-51.
- 140) **Mansour, S. L., Goddard, J. M., Capecchi, M. R. (1993):** *Development (Cambridge, U.K.)* 117: 13-28.
- 141) **Martal, J., Chene, N., Camous, S., Huynh, L., Lantier, F., Hermier, P., L'Haridon, R., Charpigny, G., Charlier, M., Chaouat, G. (1997):** Recent developments and potentialities for reducing embryo mortality in ruminants: The role of IFN-tau and other cytokines in early pregnancy. *Reprod. Fertil. Dev.* 9: 355-380.
- 142) **McArthur, C. A., Lawshe A., Xu, J., Santos-Ocampo, S., Heikinheimo, M., Chellaiah, A. T., Ornitz, D. M. (1995a):** FGF-8 isoforms activate receptor splice forms that are expressed in mesenchymal regions of mouse development. *Development.* 121: 3603-3613.
- 143) **McAvoy, J. M., Chamberlain, G. C., de Longh, R. V., Richardson, N. A., Lovicu, F. J. (1991):** The role of fibroblast growth factor in eye lens development. *Ann NY Acad Sci* 638: 256–274.
- 144) **Meyers, G. A., Orlow, S. J., Munro, I. R., Jabs, E. W. (1995):** Fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3) transmembrane mutation in Crouzon syndrome with acanthosis nigricans. *Nature Genet.* 11: 462-464.
- 145) **Michael, D. D., Alvarez, I. M., Ocón, O. M., Powell, A. M., Talbot, N. C., Johnson, S. E., Ealy, A. D. (2006):** Fibroblast Growth Factor-2 Is Expressed by the Bovine Uterus and Stimulates Interferon- τ Production in Bovine Trophectoderm. *Endocrinology.* 147: 3571-3579.
- 146) **Miglior, F., Muir, B. L., Van Dooremaal, B. J. (2005):** Selection indices in Holstein cattle of various countries. *J. Dairy Sci.* 88: 1255-1263.
- 147) **Mirams, M., Robinson, B. G., Mason, R. S., Nelson, A. E. (2004):** Bone as a source of FGF23: Regulation by phosphate? *Bone.* 35: 1192-1199.
- 148) **Miyake, A., Konishi, M., Martin, F. H., Hernday, N. A., Ozaki, K., Yamamoto, S., Mikami, T., Arakawa, T., Itoh, N. (1998):** Structure and expression of a novel member, FGF-16, on the fibroblast growth factor family. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 243: 148-152.

- 149) **Mohammadi M, Dikic I, Sorokin A, Burgess WH, Jaye M, Schlessinger J. (1996):** Identification of six novel autophosphorylation sites on fibroblast growth factor receptor 1 and elucidation of their importance in receptor activation and signal transduction. *Mol Cell Biol* 16: 977–989.
- 150) **Muenke, M., Schell, U. (1995):** Fibroblast growth factor receptor mutations in human skeletal disorders. *Trends Genet.* 11: 308-313.
- 151) **Muir, B. L., Fateh, J., Schaeffer, L. R. (2004):** Genetic relationship between persistency and reproductive performance in first-lactation Canadian Holsteins. *J.Dairy. Sci.*87: 3029-3037.
- 152) **Munoz-Sanjuan, I., Smallwood, P. M., Nathans, J. (2000):** Isoform diversity among fibroblast growth factor homologous factors is generated by alternative promoter usage and differential splicing. *J. Biol. Chem.* 275: 2589-2597.
- 153) **Nakatake, Y., Hoshikawa, M., Asaki, T., Kassai, Y., Itoh, N. (2001):** Identification of a novel fibroblast growth factor, FGF-22, preferentially expressed in the inner root sheath of the hair follicle. *Biochim. Biophys. Acta.* 1517: 460-463.
- 154) **NCBI. National Center for Biotechnology Information [online].** [cit. 2014-03-15]. Dostupné z:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> 2014.
- 155) **Neubuser, A., Peters, H., Balling, R., Martin, G. R. (1997):** *Cell.* 90: 247-255.
- 156) **Nilsson, E., Parrott, J. A, Skinner, M. K. (2001):** Basic fibroblast growth factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 175: 123–130.
- 157) **Nishimura, T., Nakatake, Y., Konishi, M., Itoh, N. (2000):** Identification of novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1492: 203-206.
- 158) **Niswander, L., Martin, G. R. (1992):** *Development (Cambridge, U.K.).* 114: 755-768.
- 159) **Ocón-Grove, O. M., Cooke, F. N. T., Alvarez, I. M., Johnson, S. E., Ott, T. L., Ealy, A. D. (2008):** Ovine endometrial expression of fibroblast growth factor (FGF) 2 and conceptus expression of FGF receptors during early pregnancy. *Domestic Animal Endocrinology.* 34: 135-145.
- 160) **O'Farrell, K. J., Crilly, J. (1999):** Trends in first service calving rates in Irish dairy herds 1991-1996, Page 52 in Proceedings of Fertility in the High-Producing Dairy Cow. *Occasional Meeting of the British Society of Animal Science*, Galway, Ireland.

- 161) **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: 832-851.
- 162) **Oikonomou, G., Michailidis, G., Kougioumtzis, A., Avdi, M., Banos, G. (2011):** Effect of polymorphisms at the STAT5A and FGF2 gene loci on reproduction, milk yield and lameness of Holstein cows. *Research in Veterinary Science*. 91: 235-239.
- 163) **Ohmachi, S., Watanabe, Y., Mikami, T., Kusu, N., Ibi, T., Akaike, A., Itoh, N. (2000):** FGF-20, a novel neurotrophic factor, preferentially expressed in the substantia nigra pars compacta of rat brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 277: 355-360.
- 164) **Olsen, S. K., Gabri, M., Zampieri, N., Elizenkova, A. V., Ornitz, D. M., Goldfarb, M., Mohamaddi, M. (2003):** Fibroblast growth factor (FGF) homologous factors share structural but not functional homology with FGFs. *J. Biol. Chem.* 278: 34226-34236.
- 165) **Ornitz, D. M. (2000):** FGFs, heparan sulfate and FGFRs: complex interactions essential for development. *BioEssays*. 22:108–12.
- 166) **Ornitz, D. M., Itoh, N. (2001):** Fibroblast growth factors. *Genome Biol* 2:REVIEWS3005.
- 167) **Ornitz, D. M., Leder, P. (1992):** Ligand specificity and heparin dependence of fibroblast growth-factor receptor-1 and receptor-3. *J. Biol. Chem.* 267: 16305-16311.
- 168) **Ornitz, D.M., Xu, J., Colvin, J.S., McEwen, D.G., MacArthur, C.A., Coulier, F., Gao, G., Goldfarb, M. (1996):** Receptor Specificity of the Fibroblast Growth Factor Family. *J. Biol. Chem.* 271: 15292-15297.
- 169) **Ornitz, D.M., Yayon, A., Flanagan, J.G., Svahn, C.M., Levi, E., Leder, P. (1992):** Heparin Is Required for Cell-Free Binding of Basic Fibroblast Growth Factor to a Soluble Receptor and for Mitogenesis in Whole Cells. *Molecular and Cellular Biology*. 12: 240-247.
- 170) **Parrott, J. A., Skinner, M. K. (1998):** Developmental and hormonal regulation of keratinocyte growth factor expression and action in the ovarian follicle. *Endocrinology*. 139:228–235.
- 171) **Paus, R., Cotsarelis, G. (1999):** The Biology of hair follicles. *N. Engl. J. Med.* 341: 491-497.

- 172) **Peluso, J. J., Pappalardo, A. (1999):** Progesterone maintains large rat granulosa cell viability indirectly by stimulating small granulosa cells to synthesize basic fibroblast growth factor. *Biol Reprod* 60: 290–296.
- 173) **Plath, A., R. Einspanier, C. Gabler, F. Peters, F. Sinowatz, D. Gospodarowicz, Schams, D. (1998):** Expression and localization of members of the fibroblast growth factor family in the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* 81: 2604–2613.
- 174) **Plotnikov, A. N., Schlessinger, J., Hubbard, S. R., Mohammadi, M. (1999):** Structural Basis for FGF Receptor Dimerization and Activation. *Cell.* 98: 641-650.
- 175) **Popis modelu pro odhady PH mléčné užitkovosti.** In: [Http://www.plemdat.cz/cz/](http://www.plemdat.cz/cz/) [online]. 2009. vyd. Benešov: Plemdat, s.r.o., 2010 [cit. 2014-04-20]. Dostupné z: http://www.plemdat.cz/cz/pages/Popis_mleko.pdf
- 176) **Portela, V. M., Machado, M., Buratini Jr., J, Zamberlam, G., Amorim, R. L., Goncalves, P., Price, Ch. A. (2010):** Expression and Function of Fibroblast Growth Factor 18 in the Ovarian Follicle in Cattle. *Biology of reproduction.* 83: 339-349.
- 177) **Post, M., Souza, P., Liu, J., Tseu, I., Wang, J., Kuliszewski, M., Tanswell, A. K. (1996):** *Development.* 122: 3107-3115.
- 178) **Powers, C. J., McLeskey, S. W., Wellstein, A. (2000):** Fibroblast growth factors, their receptors and signaling. *Endocrine-Related Cancer.* 7: 165–197.
- 179) **Prié, D., Friedlander, G. (2010):** Reciprocal Control of 1,25-Dihydroxyvitamin D and FGF23 Formation Involving the FGF23/Klotho System. *Clin. Am. Soc. Nephrol.* 5: 1717-1722.
- 180) **RCSB PROTEIN DATA BANK.** *RCSB Protein Data Bank* [online]. [cit. 2014-03-15]. Dostupné z: <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>
- 181) **Pursley, J. R., Kosorok, M. R., Wiltbank, M. C. (1997a):** Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 80:301-306.
- 182) **Pursley, J. R., Wiltbank, M. C., Stevenson, J. S., Ottobre, J. S., Garverick, H. A., Anderson, L. L. (1997b):** Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.* 80:295-300.
- 183) **Pursley, J. R., Silcox, R. W., Wiltbank, M. C. (1998):** Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and

gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:2139-2144.

- 184) **Rappolee, D. A., Basilico, C., Patel, Y., Werb, Z. (1994):** *Development (Cambridge, U.K.)*. 120: 2259-2269.
- 185) **Rescan, P. Y. (1998):** Identification of fibroblast growth factor 6 (FGF6) gene in a non-mammalian vertebrate: continuous expression of FGF6 accompanies muscle fiber hyperplasia. *Biochimica et biophysica acta*. 1443: 305-314.
- 186) **Riffkin, D. B., Moscatelli, D. (1989):** *J. Cell Biol.* 109: 1-6.
- 187) **Riley, B. B., Savage, M. P., Simandl, B. K., Olwin, B. B., Fallon, J. F. (1993):** Retroviral expression of FGF-2 (bFGF) affects patterning in chick limb bud. *Development* 118: 95–104.
- 188) **Riminucci, M., Collins, M. T., Fedarko, N. S., Cherman, N., Corsi, A., White, K. E., Waguespack, S., Gupta, A., Hannon, T., Econs, M. J., Bianco, P., Gehron Robey, P. (2003):** FGF-23 in fibrous dysplasia of bone and its relationship to renal phosphate wasting. *J. Clin. Invest.* 112: 683-692.
- 189) **Roberts, R. D, Ellis, R. C. (1999):** Mitogenic effects of fibroblast growth factors on chicken granulosa and theca cells in vitro. *Biol Reprod.* 61: 1387–1392.
- 190) **Roche, J. F., Mackey, D., Diskin, M. D. (2000):** Reproductive management of postpartum cows. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 703-712.
- 191) **Rothschild, M. F., Soller, M. (1997):** Candidate gene analysis to detect genes controlling traits of economic importance in domestic livestock. *Probe* 8: 13–22.
- 192) **Rosenquist, T. A., Martin, G. R. (1996):** Fibroblast growth factor signalling in the hair growth cycle: expression of the fibroblast growth factor receptor and ligand genes in the murine hair follicle. *Dev. Dyn.* 205: 379-386.
- 193) **Rousseau, F. et al. (1994):** Mutations in the gene encoding fibroblast growth factor receptor 3 in achondroplasia. *Nature.* 371: 252-254.
- 194) **Royal, M., G. E. Mann, Flint, A. P. (2000):** Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. *Vet. J.* 160:53–60.
- 195) **Ruoslahti, E. (1989):** Proteoglycans in cell regulation. *J. Biol. Chem.* 264: 13369-13372.

- 196) **Ryba, O.** Plemko s.r.o. *Plemko s.r.o* [online]. 2011 [cit. 2014-01-02]. Dostupné z: <http://www.plemko.cz/norske-cervene/co-je-to-a2-mleko/>
- 197) **Saksela, O., Rifkin, D. B. (1990):** Release of Basic Fibroblast Growth Factor-Heparan Sulfate Complexes from Endothelial Cells by Plasminogen Activator-mediated Proteolytic Activity. *The Journal of Cell Biology*. 110: 767-775.
- 198) **Salli, U., Bartol, F. F., Wiley, A. A., Tarleton, B. J., Braden, T. D. (1998):** Keratinocyte growth factor expression by the bovine corpus luteum. *Biol. Reprod.* 59: 77-83.
- 199) **San Antonio, J., Winston, B. M., Tuan, R. S. (1987):** Regulation of chondrogenesis by heparan sulfate and structurally related glycosaminoglycans. *Dev. Biol.* 123: 17-24.
- 200) **Sheng, Z., John, A., Chirico, L., Chirico, W. (2004):** Nuclear and Nucleolar Localization of 18-kDa Fibroblast Growth Factor-2 Is Controlled by C-terminal Signals. *J. Biol. Chem.* 279: 40153-40160.
- 201) **Shiang, R. et al. (1994):** Mutations in the transmembrane domain of FGFR3 cause the most common genetic form of dwarfism, achondroplasia. *Cell*. 78: 335-342.
- 202) **Schiavi, S. C. (2006):** Fibroblast growth factor 23: the making of a hormone. *Kidney Intl.* 69: 425-427.
- 203) **Shimizu, M., Uryu, N., Yamauchi, K. (1981):** Presence of Heparan Sulfate in the Fat Globule Membrane of Bovine and Human Milk. *Agric. Biol. Chem.* 45: 741-745.
- 204) **Schams, D. (1994):** Growth factor in milk. *Endocr. Regul.* 28:3.
- 205) **Schmitt, E. J., Diaz, T., Drost, M., Thatcher, W. W. (1996):** Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J. Anim. Sci.* 74: 1084-1091.
- 206) **Schnabel, R. D., SoEnstega, T. S., Taylor, J. F., Ashwel, M. S. (2005):** Whole genome scan to detect QTL for milk production, conformation, fertility and functional traits in two US Holstein families. *Anim. Genet.* 36: 408-416.
- 207) **Schrooten C., Bovenhuis H., Coppieters W., van Arendonk J. A. M. (2000):** Whole genome scan to detect quantitative trait loci for conformation and functional traits in dairy cattle, *J. Dairy Sci.* 83:795–806.

- 208) **Schwertfeger, K. L. (2009):** Fibroblast growth factors in development and cancer: Insights from the mammary and prostate glands. *Curr Drug Targets*. 10: 632-644.
- 209) **Silveri L., Tilly G., Vilotte J. L., Le Provost F. (2006):** MicroRNA involvement in mammary gland development and breast cancer. *Reproduction Nutrition Development*. 46: 549–56.
- 210) **Sitara, D., Razzaque, M. S., Hesse, M., Yoganathan, S., Taguchi, T., Erben, R. G., Juppner, H., Lanske, B. (2004):** Homozygous ablation of fibroblast growth factor-23 results in hyperphosphatemia and impaired skeletogenesis, and reverses hypophosphatemia in Phex-deficient mice. *Matrix Biol*. 23: 421-432.
- 211) **Smallwood, P. M., Munoz-Sanjuan, I., Tong, P., Macke, J. P., Hendrys, S. H. C., Gilbert, D. J., Copeland, N. G., Jenkins, N. A., Nathans, J. (1996):** Fibroblast growth factor (FGF) homologous factors: New members of the FGF family implicated in nervous system development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 93: 9850-9857.
- 212) **Smaragdov, M. G., Prinzenberg, E., Zwierzchowski, L. (2006):** QTL mapping in cattle: theoretical and empirical approach. *Animal Science Papers and Reports*. 24: 69-110.
- 213) **Snelling, W. M., Casas, E., Stone, R. T., Keele, J. W., Harhay, G. P., Bennet, G. L., Smith, T. P. (2005):** Linkage mapping bovine EST-based SNP. *BMC Genomics*. 6:74.
- 214) **Sontag, D. P., Cattini, P. A. (2003):** Cloning and bacterial expression of postnatal mouse heart FGF-16. *Mol. Cell. Biochem*. 242: 65-70.
- 215) **Sonstegard, T. S., Van Tassell, C. P., Ashwell, M. S. (2001):** Dairy cattle genomics: Tools to accelerate genetic improvement? *J. Anim. Sci*. 79:E307-E315.
- 216) **Spelman R., Garrick D. (1997):** Utilisation of marker assisted selection in a commercial dairy cow population, *Livest. Prod. Sci*. 47:139–147.
- 217) **Spencer, T. E., Bazer, F. W. (2002):** Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Front. Biosci*. 7:d1879–d1898.
- 218) **Spencer, T. E., Burghardt, R. C., Johnson, G. A., Bazer, F. W. (2004):** Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Animal Reproduction Science*. 82-83: 537-550.
- 219) **Stachowiak, M. K., Moffet, J., Maher, P., Tucholsko, J., Stachowiak, E. K. (1997):** *Mol. Neurobiol*. 15: 257-283.

- 220) Stručný manuál k používání souborů série holštýnské linie.
In: [Http://www.mtsro.cz/joomla/](http://www.mtsro.cz/joomla/)[online]. 2014 [cit. 2014-04-20].
Dostupné z: <http://www.mtsro.cz/linie/manual.pdf>
- 221) **Sundberg, J. P., Rourk, M. H., Boggess, D., Hogan, M. E., Sundberg, B. A., Bertolino, A. P. (1997):** Angora mouse mutation: altered hair cycle, follicular dystrophy, phenotypic maintenance of skin grafts, and changes in keratin expression. *Vet. Pathol.* 34: 171-179.
- 222) **Suzuku, S., Kato, T., Takimoto, H., Masui, S., Oshima, H., Ozawa, K., et al. (1998):** Localization of rat FGF-5 protein in skin macrophage-like cells and FGF-5S protein in hair follicle: possible involvement of two Fgf-5 gene products in hair growth cycle regulation. *J. Invest. Dermatolog.* 111: 963-972.
- 223) **Suzuki, S., Ota, Y., Ozawa, K., Imamura, T. (2000):** Dual-mode regulation of hair growth cycle by two Fgf-5 gene products. *J. Invest. Dermatol.* 114: 456-463.
- 224) **Suzuki, M., Uehara, Y., Motomura-Matsuzaka, K., Oki, J., Koyama, Y., Kimura, M., Asada, M., Komi-Kuramochi, A., Oka, S., Imamura, T. (2008):** β Klotho is required for fibroblast growth factor (FGF) 21 signaling through FGF receptor (FGFR) 1c and FGFR3c. *Mol. Endocrinol.* 22: 1006-1014.
- 225) **Tagashira, S., Harada, H., Katsumata, T., Itoh, N., Nakatsuka, M. (1997):** Cloning of mouse FGF10 and up-regulation of its gene expression during wound healing. *Gene.* 197: 399-404.
- 226) **Taniguchi, F., Harada, T., Sakamoto, Y., Yamauchi, N., Yoshida, S., Iwabe, T., et al. (2003):** Activation of mitogen activated protein kinase pathway by keratinocyte growth factor of fibroblast growth factor-10 promotes cell proliferation in human endometrial carcinoma cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88: 773-780.
- 227) **Taniguchi, F., Harada, T., Yoshida, S., Iwabe, T., Onohara, Y., Tanikawa, M., Terakawa, N. (1998):** Paracrine effects of bFGF and KGF on the process of mouse blastocyst implantation. *Molecular Reproduction and Development.* 50: 54–62.
- 228) **Thesleff, I., Jalkanen, M., Vainio, S., Berofield, M. (1989):** Cell surface proteoglycan expression correlates with epithelial-mesenchymal interaction during tooth morphogenesis. *Dev. Biol.* 129:565-572.
- 229) **Thisse B, Thisse C. (2005):** Functions and regulations of fibroblast growth factor signaling during embryonic development. *Dev Biol.* 287: 390–402.

- 230) **Top-Bio:** Produkty. *Top-Bio* [online]. [cit. 2014-03-08]. Dostupné z: http://www.top-bio.cz/files/1159_pl.pdf
- 231) **Unsicker K, Engels S, Hamm C, Ludecke G, Meier C, Renzing J, Terbrack HG, Flanders K. (1992):** Molecular control of neural plasticity by the multifunctional growth factor families of the FGFs and TGF- β . *Anat Anz* 174: 405–407
- 232) **Urban, T. .** *Genetické stránky Tomáše Urbana: Genetické výukové centrum při ÚMFGZ* [online]. 2013a, 20.01.2014 [cit. 2014-03-15]. Dostupné z: <http://user.mendelu.cz/urban/vsg2/elab7/index7.htm>
- 233) **Urban, T.** *Genetické stránky Tomáše Urbana - izolace DNA: Genetické výukové centrum při ÚMFGZ - izolace DNA* [online]. 2013b, 20.01.2014 [cit. 2014-03-15]. Dostupné z: <http://user.mendelu.cz/urban/vsg2/elab7/izol.htm>
- 234) **Valve, E., Penttila, T. L., Paranko, J., Harkonen, P. (1997):** FGF-8 is expressed during specific phases of rodent oocyte and spermatogonium development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 232: 173-177.
- 235) **van Wezel, I. L., Umapathysivam, K., Tilley, W. D., Rodgers, R. J. (1995):** Immunohistochemical localization of basic fibroblast growth factor in bovine ovarian follicles. *Mol Cell Endocrinol* 115: 133–140.
- 236) **Veerkamp, R.F., Beerda, B. (2007):** Genetics and genomics to improve fertility in high producing dairy cows. *Theriogenology.* 68: 266-273.
- 237) **Vlodavsky, I., Folkman, J., Sullivan, R., Fridman, R., Ishai-Michaeli, R., Sasse, J., Klagsbrun, M. (1987):** Endothelial cell-derived basic fibroblast growth factor: synthesis and deposition into subendothelial extracellular matrix. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84: 2292-2296.
- 238) **Wagner, J. A. (1991):** The fibroblasts growth factors: an emerging family of neural growth factors. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 165: 95–118.
- 239) **Wang, Ch., Hennessey, A., Kirkton, R. D., Wang, Ch., Graham, V., Puranam, R. S., Rosenberg, P. B., Bursac, N., Pitt, G. S. (2011):** Fibroblast growth factor homologous factor 13 regulates Na⁺ channels and conduction velocity in murine heart. *Circ. Res.* 109: 775-782.
- 240) **Wang, F., Kan, M., Yan, G., Xu, J. & McKeehan, W. L. (1995):** *J. Biol. Chem.* 270, 10231–10235.
- 241) **Wang, X., Maltecca, C., Tal-Stein, R., Lipkin, E., Khatib, H. (2008):** Association of Bovine Fibroblast Growth Factor 2 (*FGF2*) Gene with Milk

Fat and Productive Life: An Example of the Ability of the Candidate Pathway Strategy to Identify Quantitative Trait Genes. *Journal of Dairy Science*. 91: 2475-2480.

- 242) **Wilkie, A. O. M., Morriss-Kay G. M., Jones, E. Y. & Heath, J. K.(1995):** *Curr. Biol.* 5: 500–507.
- 243) **Werner, S., Peters, K. G., Longaker, M. T., Fuller-Pace, F., Banda, M. J., et al.(1992):** Large induction of keratinocyte growth factor expression in the dermis during wound healing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 89: 6896-6900.
- 244) **Werner, S., Smola, H., Liao, X., Longaker, M. T., Krieg, T.,Hofschneider, H. P. & Williams, L. T. (1994):** *Science* 266: 819–822.
- 245) **Wolfenson, D., Roth, Z., Meidan, R. (2000):** Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61:535-547.
- 246) **Wright, T. J., Hatch, E. P., Karabagli, H., Schoenwolf, G. C., Mansour, S. L. (2003):** Expression of mouse fibroblast growth factor and fibroblast growth factor receptor genes during early inner ear development. *Dev. Dyn.* 228: 267-272:
- 247) **Xie, M. H., Holcomb, I., Deuel, B., Dowd, P., Huang, A., et al. (1999):** FGF-19, a novel fibroblast growth factor with unique specificity for FGFR4. *Cytokine*. 11: 729-735.
- 248) **Yamaguchi, T. P., Harpal, K., Henkemeyer, M., Rossant, J. (1994):** *Genes. Dev.* 8: 3032-3044.
- 249) **Yan, H., Pablo, J. L., Pitt, G. S. (2013):** FGF14 regulates presynaptic Ca²⁺ channels and synaptic transmission. *Cell. Rep.* 4: 66-75.
- 250) **Yang, Q. E., Fields, S. D., Zhang, K., Ozawa, M., Johnson, S. E., Ealy, A. D. (2011):** Fibroblast Growth Factor 2 Promotes Primitive Endoderm Development in Bovine Blastocyst Outgrowths. *Biology of reproduction*. 85: 946-953.
- 251) **Yayon, A., Klagsbrun, M., Esko, J. D., Leder, P., Ornitz, D. M. (1991):** Cell surface, heparin-like molecules are required for binding of basic fibroblast growth factor to its high affinity receptor. *Cell*. 64:841-848.
- 252) **Yokota, H., Raposo, J. F., Chen, A., Jiang, Ch., Ferreira, H. G. (2009):** Evaluation of the Role of FGF23 in Mineral Metabolism. *Gene Regulation and Systems Biology*. 3: 131-142.

- 253) **Zhang, X., Bates, B., Hu, X., Goldfarb, M. (1988):** The Human FGF-5 Oncogene Encodes a Novel Protein Related to Fibroblast Growth Factors. *Molecular and Cellular Biology*. 8: 3487-3495.
- 254) **Zhang, X., Ibrahimi, O. A., Olsen, S. K., Umemori, H., Mohammadi, M., Ornitz, D. M. (2006):** Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. The complete mammalian FGF family. *J. Biol. Chem.* 281: 15694-15700.
- 255) **Żukiewicz, A., Grzesiak, W., Szatkowska, I., Błaszczyk, P., Dybus, A. (2012):** Genetic Factors of Milk Yield in Dairy Cattle – Advances in the Quest for Universal Markers. *Israel Journal of Veterinary Medicine*. 67: 92-91.

6 SEZNAM ZKRATEK

Zkratka	Anglický název	Český název
BoLA	<i>Bovine Leukocyte Antigen</i>	Histokompatibilní komplex
BTA	<i>Bos Taurus Autosome</i>	Bovinní autozom
CDDR	<i>Cooperative Dairy DNA Repository</i>	
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>	Kyselina ethylendiamintetraoctová
EtBr	<i>Ethidium Bromide</i>	Ethidium bromid
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>	Fibroblastový růstový faktor
FGFR	<i>Fibroblast Growth Factor Receptor</i>	Receptor fibroblastového růstového faktoru
FHF	<i>Homologous Factors</i>	Homologní faktory
GAS	<i>Gene Assisted Selection</i>	Gen asistovaná selekce
GS	<i>Genomic Selection</i>	Genomická selekce
HS	<i>Heparan Sulfate</i>	Heparansulfát
HSPG	<i>Heparan Sulfate Proteoglycan</i>	Heparansulfátproteoglykan
IFN τ	<i>Interferon-τ</i>	Interferon- τ
KGF	<i>Keratinocyte Growth Factor</i>	Keratinocytový růstový faktor
MAS	<i>Marker Assisted Selection</i>	Marker asistovaná selekce
MY	<i>Milk Yield</i>	Dojivost
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>	Polymerázová řetězová reakce
PTH	<i>Parathormone</i>	Parathormon
RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>	Polymorfismus délky restričních fragmentů
SCS	<i>Somatic Cell Score</i>	Skóre somatických buněk
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>	Jednonukleotidový polymorfismus
TAE	<i>Tris-acetate-EDTA buffer</i>	Trisacetátový pufr
TBE	<i>Tris-borate-EDTA buffer</i>	Tris-borátový EDTA pufr
TE	<i>Tris-EDTA</i>	Tris-EDTA pufr
QTL	<i>Quantitative Loci Traits</i>	Lokusy kvantitativních znaků

7 SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Mapa QTL pro užitkové vlastnosti mléčné produkce skotu	14
Tab. 2: Mapa QTL pro užitkové vlastnosti mléčné produkce skotu	15
Tab. 3: Lokalizace <i>FGF</i> genů v genomu skotu.....	20
Tab. 4: <i>FGF</i> podrodiny u člověka	21
Tab. 5: Předpokládaná funkce <i>FGF2</i> v různých orgánových systémech.....	28

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Krystalická struktura kinázové domény FGFR1 člověka	22
Obr. 2: Krystalická struktura FGF v komplexu s extracelulární doménou vážící ligand FGFR2.....	24
Obr. 3: 3D struktura FGF1 skotu	26
Obr. 4: Lokalizace <i>FGF2</i> genu na 17. bovinním autozomu	27
Obr. 5: Aktivace receptoru (FGFR) dimerizací za přítomnosti ligandu (FGF) a níže afinního receptoru (HS).	38