

Mgr inż. Marzena Kęsek-Woźniak

- **Dziedzina:** Nauki rolnicze
- **Dyscyplina:** Zootechnika
- **Data otwarcia przewodu doktorskiego:** 26.09.2013 r.
- **Temat:** Wpływ polimorfizmu genów *ACACA*, *DGAT1* i *SCD1* na skład i profil kwasów tłuszczowych mleka krów z uwzględnieniem ekspresji genów w gruczole mlekowym
- **Promotor:** prof. dr hab. inż. Tadeusz Szulc, dr h.c. multi
- **Promotor pomocnicza:** dr hab. inż. Anna Zielak-Steciwko
- **Recenzenci:**
 - 1) prof. dr hab. inż. Zygmunt Gil
 - 2) prof. dr hab. Jolanta Król

STRESZCZENIE

Kwasy tłuszczowe to związki o złożonej budowie, które pełnią wiele funkcji, m.in. stanowią paliwo metaboliczne (magazynowanie i transport energii) oraz niezbędny budulec błon komórkowych. Wyróżnia się dwie drogi przedostawania się kwasów tłuszczowych do mleka: pobieranie z triacylogliceroli osocza krwi pochodzących z trzech źródeł (paszy, rezerw energetycznych i syntezy *de novo* w żwaczu) oraz synteza *de novo* w komórkach mlekotwórczych. Synteza *de novo* kwasów tłuszczowych jest łańcuchem reakcji wymagającym działania licznych enzymów. Pierwszym etapem tej syntezy jest karboksylacja acetylo-CoA, w wyniku której powstaje malonylo-CoA. Etap ten katalizowany jest przez enzym karboksylazę acetylo-CoA. Dalej następuje wydłużanie łańcucha węglowego przez wielofunkcyjny kompleks enzymatyczny, syntazę kwasów tłuszczowych. Następnie może mieć miejsce nienasycanie kwasów tłuszczowych w pozycji *cis*-9. Proces ten katalizowany jest przez desaturazę stearoilo-CoA. Kolejnym krokiem jest tworzenie trójglicerydów. Ostatnia faza tego etapu katalizowana jest przez diacylglycerol o-acyltransferazę.

Enzymy uczestniczące w tych procesach kodowane są przez różne geny. Gen *ACACA*, kodujący karboksylazę acetylo-CoA α , zlokalizowany jest u bydła na chromosomie 19. Podobnie jak gen *FASN*, kodujący syntazę kwasów tłuszczowych. Gen *SCD*, kodujący desaturazę stearoilo-CoA, zlokalizowany jest u bydła na chromosomie 26. Gen *DGAT1*, kodujący diacylglycerol o-acyltransferazę 1, zlokalizowany jest na chromosomie 14, na którym zlokalizowano QTL związane z tłuszczem mleka. Polimorfizm tych genów i jego współzależność z profilem kwasów tłuszczowych w mleku jest przedmiotem licznych badań. Najnowsze badania wskazują także na zróżnicowaną ekspresję wybranych genów w gruczole mlekowym podczas laktacji. Ponadto stwierdzono wpływ wielu czynników zewnętrznych, m.in. takich jak żywienie na ekspresję genów w gruczole mlekowym.

Celem pracy doktorskiej była analiza wpływu wybranych genomowych czynników (polimorfizmu genów *ACACA*, *SCD1* i *DGAT1* oraz ekspresji genów *ACACA*, *FASN* i *SCD*) na profil kwasów tłuszczowych w kolejnych fazach laktacji u bydła.

W analizowanym fragmencie genu *ACACA* stwierdzono obecność nowego SNP, AJ312201.1g.1488C>G (g.1488C>G). W badanych populacjach potwierdzono występowanie polimorfizmów A293V genu *SCD1* i K232A genu *DGAT1*. Dla każdego SNP stwierdzono trzy genotypy:

- g.1488C>G: CC, CG, GG,
- A293V: AA, VA, VV,
- K232A: KK, KA, AA.

Stwierdzono tendencję do wyższej zawartości kwasów tłuszczowych, m. in. grupy SFA oraz niższej zawartości kwasów tłuszczowych, m. in. grupy UFA, przy obecności homozygotycznego genotypu: GG w genie *ACACA*, VV w genie *SCD1* i KK w genie *DGAT1*, które miały najniższą frekwencję występowania. Ponadto wykazano szczególnie wyraźną zależność grupy kwasów tłuszczowych o łańcuchu z 18 atomami węgla z polimorfizmem badanych genów. Genotyp VV w *SCD1* wiązał się z najsilniejszymi zmianami kwasów tłuszczowych w czasie trwania laktacji.

Stwierdzono, że ekspresja mRNA dla *ACACA*, *FASN* i *SCD* zmienia się podczas laktacji i jest silnie skoordynowana. Zaobserwowano wyłącznie słabą korelację między zawartością kwasów tłuszczowych a ekspresją badanych genów, co wskazuje, że synteza kwasów tłuszczowych w gruczole mlekowym jest procesem bardzo złożonym, regulowanym przez wiele czynników, w szczególności żywienie.

ABSTRACT

Fatty acids are compounds with a complex structure that have many functions, such as acting as metabolic fuel (energy storage and transport) or as essential building block for all cell membranes. There are two routes of fatty acids to milk: uptake of plasma triacylglycerols from three sources (feed, energy reserves and *de novo* synthesis in the rumen) and *de novo* synthesis in milk-producing cells. *De novo* synthesis of fatty acids is a chain of reactions that requires action of numerous enzymes. The first step in this synthesis is the carboxylation of acetyl-CoA, which produces malonyl-CoA. This step is catalysed by the enzyme acetyl-CoA carboxylase. Next, the carbon chain is extended by a multifunctional enzyme complex, fatty acid synthase. Subsequently, unsaturation of the cis-9 fatty acids can take place. This process is catalysed by stearoyl-CoA desaturase. The next step is to create triglycerides. The last phase of this step is catalysed by diacylglycerol o-acyltransferase.

The enzymes involved in these processes are encoded by various genes. The *ACACA* gene, which encodes acetyl-CoA α carboxylase, is located in cattle on chromosome 19. As is the *FASN* gene, which encodes fatty acid synthase. The *SCD* gene,

encoding stearoyl-CoA desaturase, is located in cattle on chromosome 26. The *DGAT1* gene, encoding diacylglycerol o-acyltransferase 1, is located on chromosome 14, on which the milk fat-associated QTL has been located. The polymorphism of these genes and its relationship with the fatty acid profile in milk is the subject of numerous studies.

Recent research shows that genes are expressed differently in the mammary gland during lactation. Moreover, the influence of many external factors, such as nutrition, on genes expression in the mammary gland was found.

The aim of the research project was to analyse the influence of selected genomic factors (*ACACA*, *SCD1* and *DGAT1* gene polymorphism and expression of *ACACA*, *FASN* and *SCD* genes) on the fatty acid profile in subsequent stages of lactation.

In the analysed fragment of the *ACACA* gene, the presence of a new SNP, AJ312201.1g.1488C> G (g.1488C> G) was found. The presence of the A293V polymorphism in the *SCD1* gene and the K232A polymorphism in the *DGAT1* gene was confirmed in the studied populations. Three genotypes were found for each SNP:

- g.1488C> G: CC, CG, GG,
- A293V: AA, VA, VV,
- K232A: KK, KA, AA.

There was a trend towards higher fatty acid content such as the SFA group and lower fatty acid content such as the UFA group with the homozygous genotypes: GG in *ACACA*, VV in *SCD1* and KK in *DGAT1*, which had the lowest frequency of occurrence. Moreover, the association of the group with a chain length of 18 C atoms with the polymorphism of the studied genes was observed. The VV genotype in *SCD1* was associated with the strongest changes in fatty acids during lactation.

ACACA, *FASN* and *SCD* mRNA expression has been found to vary during lactation and to be highly coordinated. Only a weak correlation was observed between the content of fatty acids and the expression of the studied genes, which indicates that the synthesis of fatty acids in the mammary gland is a very complex process, regulated by many factors, especially feeding.

Kopce - Jolmick

