

**MENDELOVA ZEMĚDĚLSKÁ A LESNICKÁ
UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

Bakalářská práce

BRNO 2007

Martin Hajzler

Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně
Agronomická fakulta

Vztah genetického polymorfismu kaseinu na kvalitu mléka
Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce:
Prof. Ing. Josef Dvořák Csc.

Vypracoval:
Martin Hajzler

Brno 2007

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma **Vztah genetického polymorfismu kaseinu na kvalitu mléka** vypracoval(a) samostatně a použil(a) jen pramenů, které cituji a uvádím v příloženém seznamu literatury.

Souhlasím, aby práce byla uložena v knihovně Mendlovy zemědělské a lesnické univerzity a zpřístupněna ke studijním účelům.

V Brně, dne 11. 5. 2007

Podpis studenta.....

PODĚKOVÁNÍ

Dovoluji si touto cestou poděkovat všem, kteří mi pomáhali při zpracování této bakalářské práce, zvláště rodičům za poskytnutý genetický potenciál a mým sourozencům, díky kterým jsem ho mohl rozvíjet.

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá vlivem genetického polymorfismu kaseinu na kvalitu mléka. Cílem této práce je vysvětlit význam kaseinů v mléce, jejich genetické založení. Dále pak popsat výskyt polymorfismu kaseinů v populacích dojnic, jejich vliv na technologické vlastnosti mléka a možný dopad na lidské zdraví.

Obsah kaseinu u kravského mléka je asi 80% z čistých bílkovin. Kasein se dále dělí na α – kasein, β – kasein a κ - kasein. α – kasein pak ještě na α_{S1} -kasein a α_{S2} -kasein. Alela α_{S1} -CN C má lepší sýrařské vlastnosti. Alela α_{S1} -CN A bývá uváděna ve spojitosti s vodnatým tvarem. Alely β – CN B a C mají vliv na lepší kvalitu sýřeniny než alela β – CN A. κ – CN má asi největší vliv na kvalitu mléka pro sýrařské potřeby. Nejdelší čas koagulace je u varianty κ – CN AA, následované variantou AB, nejkratší je u varianty κ – CN BB. Jakost sýřeniny bývá největší u varianty κ – CN AA. Co se týče vlivu genetického polymorfismu β – kaseinu na lidské zdraví, většina autorů propaguje variantu β – kaseinu A2. Důvod je ten, že v trávicím traktu rozkladem A1 β – kaseinu vzniká beta-casomorphin-7 (BCM 7), zatímco u A1 β – kaseinu tomu tak není. BCM 7 má negativní účinek na lidský organismus. A1 může mít tedy negativní vliv na rozvoj nemoci IDDM, a kardiovaskulárních nemocí. Touto problematikou se zabývá mnoho vědců na celém světě a konečné stanovisko o účinku variant β – kaseinů není dosud známé.

Klíčová slova: Genetický polymorfismus, kasein, alela, kvalita mléka.

Abstract

This bachelor thesis deals with the relationship between genetic polymorphism of casein and the quality of milk. The aim of this work is to interpret the significance of caseins in milk, their genetic foundation, as well as to describe the incidence of casein polymorphism in milker populations, its influence on the technological characteristics of milk and possible impact on human health.

Casein takes up about 80% of pure proteins in cow's milk. It can be divided into three main groups: α – casein, β – casein and κ - casein. α – casein can be further classified as either α_{S1} -casein or α_{S2} -casein. α_{S1} -CN C allele has better cheese characteristics, α_{S1} -CN A is often mentioned in connection with watery curd. β – CN B and C alleles have influence over the better quality of cheese curd than β – CN A allele. κ – CN has probably the greatest influence over the quality of milk for cheese process(es). The longest coagulation time is in variety κ – CN AA, followed by variety AB, the shortest one is in variety κ – CN BB. The highest cheese curd quality is by variety κ – CN AA. Regarding the influence of genetic polymorphism of β – casein over human health, majority of authors promote the A2 variety of β – casein. Their reason is the creation of beta-casomorphin-7 (BCM 7) during the decomposition of A1 β – casein in digestive tract, which doesn't occur during the decomposition of A2 β – casein. BCM 7 has negative effects on human organism. A1 β – casein may thus have a negative influence over the development of IDDM and cardiovascular disease. Many scientists in the whole world are engaged in this problem; however, no final stand on the influence of β – caseins has been agreed on yet.

Key words: Genetic polymorphism, casein, allele, quality of milk.

Obsah:

1. Úvod.....	10
2. Literární přehled.....	11
2.1. Co to je genetický polymorfismus?.....	11
2.2. Složení mléka.....	11
2.2.1. Obecné složení mléka.....	11
2.2.2. Dusíkaté látky.....	12
2.3. Kaseiny.....	13
2.3.1. Alfa kaseiny.....	13
2.3.1.1. Alfa S1 kasein.....	14
2.3.1.2. Alfa S2 kasein.....	15
2.3.2. Beta kaseiny.....	15
2.3.3. Kapa kaseiny.....	17
2.4. Genetické založení mléčných proteinů.....	18
2.5. Frekvence genotypů alel.....	21
2.5.1. Frekvence genotypů alel alfa s1 kaseinu.....	21
2.5.2. Frekvence genotypů alel beta kaseinu.....	24
2.5.3. Frekvence genotypů alel kapa kaseinu.....	26
2.6. Vztah kaseinů k mléčné užitkovosti.....	27
2.6.1. Vztah alfa s1 kaseinu k mléčné užitkovosti.....	27
2.6.2. Vztah beta kaseinu k mléčné užitkovosti.....	29
2.6.3. Vztah kapa kaseinu k mléčné užitkovosti.....	29
2.7. Kaseiny a technologické vlastnosti mléka.....	31
2.7.1. Alfa s1 kasein a technologické vlastnosti mléka.....	31
2.7.2. Beta kasein a technologické vlastnosti mléka.....	31
2.7.3. Kapa kasein a technologické vlastnosti mléka.....	32
2.7.4. Kombinace genotypů a technologické vlastnosti mléka.....	32
2.8. Kaseiny v kozím mléce a na jeho kvalitu.....	33
2.8.1. Alfa s1 kasein a jeho vliv na kvalitu kozího mléka.....	33
2.8.2. Alfa s2 kasein a jeho vliv na kvalitu kozího mléka.....	34
2.8.3. Beta kasein a jeho vliv na kvalitu kozího mléka.....	34
2.8.4. Kapa kasein a jeho vliv na kvalitu kozího mléka.....	34
2.9. Vliv genetické varianty kapa kaseinu na technologické vlastnosti sýrů.....	35
2.9.1. Čerstvé sýry.....	35

2.9.2. Nízkodohříváné sýry.....	37
2.10. Genetický vliv kaseinu na zdraví člověka při konzumaci mléka.....	40
2.10.1. Mléko a výskyt srdečních chorob.....	40
2.10.2. Vliv beta kaseinu na zdraví člověka.....	41
2.10.2.1. Výskyt nemoci IDDM.....	41
2.10.2.2. Možné příčiny výskytu nemoci IDDM.....	42
2.10.2.3. Možné důvody nižšího výskytu IDDM na Islandu než ve Skandinávii a možný mechanismus vzniku diabetogenicity.....	43
2.10.2.4. Vliv kojení a začátkem přijímání kravského mléka kojenci.....	44
2.10.2.5. Vliv genetické náchylnosti a vliv enviromentální k rozvoji IDDM.....	45
3. Závěr.....	47
4. Použitá literatura.....	48

Seznam tabulek:

Tabulka č.1 - Diference v aminokyselinách u různých polymorfních variant α_{S1} -CN

Tabulka č. 2 – Diference v aminokyselinách u různých polymorfních variant β -CN

Tabulka č. 3 – Rozdíly v AMK složení κ -CN

Tabulka č. 4 – Nukleotidové sekvence genů mléčných proteinů

Tabulka č. 5 – Charakteristika genetických variant mléčných proteinů

Tabulka č. 6 – Frekvence alel α_{S1} -CN

Tabulka č. 7 – Frekvence genotypů α_{S1} -CN

Tabulka č. 8 – Frekvence alel β -CN (alkalické prostředí)

Tabulka č. 9 – Frekvence alel β -CN (kyselé prostředí)

Tabulka č. 10 – Frekvence genotypů β -CN

Tabulka č. 11 – Frekvence genotypů κ -CN u různých plemen

Tabulka č. 12 – Výsledky rozborů mléka pro výrobu čerstvých sýrů

Tabulka č. 13 – Výsledky rozborů mléka pro výrobu nízkodohříváných sýrů

Tabulka č. 14 – Počet zemřelých mužů ve věku 39 – 69 let ve vztahu se spotřebou beta kaseinu A1

1. Úvod

Mléko a mléčné výrobky jsou jedny z nejcennějších potravin ve výživě člověka již od začátku domestikace zvířat. Archeologické výzkumy potvrzují, že člověk konzumoval kravské mléko už více než před 6 000 lety. Mléko je nezastupitelné zejména pro děti, dospívající mládež, zdravotně oslabené osoby, ale je i důležitou složkou ve výživě zdravého dospělého člověka. Obsahuje plnohodnotné a velmi cenné bílkoviny (kaseiny mají mimo jiné ochrannou funkci jater, syrovátkové bílkoviny obsahují nespecifický růstový faktor), lehce stravitelné tuky a laktózu. Díky lecitinu, mléko i při 2 % tučnosti snižuje hladinu cholesterolu v krvi člověka. Mléko dále obsahuje vitamíny (A, B₂, C, D) a minerální látky. Z minerálních látek obsahuje hlavně vápník (1220 mg/l), draslík (1440 mg/l), sodík (600 mg/l) a dále i hořčík a fosfor. Mléko je zdrojem nepostradatelných stopových prvků, obsahuje zinek, měď a selen, které jsou důležité pro různé metabolické funkce a obranyschopnost organismu. Tento pozitivní účinek, tj. stimulaci imunitního systému, způsobuje také laktoferin (1,7 mg/l) a lysozym, který navíc působí na optimalizaci tzv. kostního zrání (uzavírání kostních štěrbin v pubertálním období). Obsah lysozymu v mléce je liší podle původu mléka. Kysané mléčné výrobky obsahují důležité mikroorganismy (rod *Lactobacillus* apod.), které napomáhají udržet správnou funkci střev a podílejí se na snižování rizika onemocnění rakoviny tlustého střeva, které je v České republice v přepočtu na jednoho obyvatele největší na světě.

I významný politik, premiér Britského království a spisovatel Winston Churchill si byl vědom důležitosti konzumace mléka a prohlásil: „Neexistuje lepší investice, než dát dětem mléko.“

Vlivem různých genetických variant kaseinů na kvalitu a technologické vlastnosti mléka, užítkovost dojnic a vlivem polymorfismu beta kaseinu na zdraví člověka se bude zabývat tato bakalářská práce.

2. Literární přehled

2.1 Co to je genetický polymorfismus?

Termín genetický polymorfismus znamená, že jeden gen v populaci kódován více alelickými variantami. Homozygotní jedinci mají v genetickém kódu přítomnou pouze jednu variantu, kdežto heterozygoti mají přítomny dvě z možných alelických variant kódujících daný lokus (Soldát, 2006).

Vztah mezi genotypem alel kódujících mléčné bílkoviny a kvantitativními i kvalitativními parametry mléčné užitkovosti byl studován mnoha autory prakticky od padesátých let, kdy Aschaffengurg a Drewery (1955) popsali první výskyt polymorfismu u betalaktoglobulinu – nejdůležitější bílkoviny syrovátky, tedy výskyt dvou forem této bílkoviny, které se liší pořadím aminokyselin v řetězci. Postupně byly identifikovány polymorfní varianty i u ostatních genů kódujících mléčné proteiny (Jandurová, 2002).

2.2 Složení mléka

2.2.1 Obecné složení mléka

Biologická hodnota mléka je vysoká. Mléko obsahuje kolem 200 různých látek, z toho 60 mastných kyselin, 40 minerálních prvků, 20 aminokyselin, 17 vitamínů, řadu enzymů, hormonů a pigmentů. K základním složkám mléka patří bílkoviny, tuk, laktóza, minerální látky a voda.

Ve složení mléka existují značné druhové rozdíly. Obsah tuku kolísá u různých druhů zvířat od 1 do 500 g, bílkovin od 10 do 200 g, laktózy od 0 do 100 g / l. Složení mléka, zejména obsah bílkovin a minerálních látek, má úzký vztah k intenzitě růstu mláďat.

Mléko představuje disperzní systém s různým stupněm disperze jednotlivých částic. Zcela je v mléce rozpuštěna laktóza a minerální látky. Bílkoviny a organické látky jsou v koloidním stavu, tuk ve formě emulze tukových kapiček (v hrubě disperzním stavu) (Jelínek, 2003).

2.2.2 Dusíkaté látky

Dusíkaté látky mléka tvoří nejkompexnější složku mléka a vzhledem k významu je těmto látkám věnována také největší pozornost. Dusíkaté látky mléka také určují základní fyzikální a chemické vlastnosti mléka a některé z nich kromě nutriční hodnoty mají vysoce významné biologické funkce (imunoglobuliny, laktoferin, enzymy aj.).

Bílkoviny se běžně stanovují po spálení celého vzorku mléka podle Kjeldahla a zjištěný obsah dusíku se pak přepočte na bílkoviny násobením faktorem 6,38. Již použití tohoto faktoru je problematické. Pro celé mléko je uváděn jako přesnější faktor 6,35, pro nutriční hodnotu bílkovin se používá obecný faktor 6,25. Bez ohledu na velikost faktoru neurčuje výsledek, běžně označovaný jako bílkoviny, pouze bílkoviny, ale veškeré dusíkaté látky mléka, vyjádřené jako bílkoviny. Z veškerého dusíku v mléce je ale v bílkovinách obsaženo v ideálním případě pouze 93 až 95 %, zbývajících 5 až 7 % je obsaženo v nebílkovinných dusíkatých látkách. Proto se tato hodnota běžně označuje jako hrubá bílkovina (v angličtině crude protein). Obsah skutečných – čistých bílkovin (v angličtině true protein) je tedy nejméně o těchto 5 až 7 % nižší. Ve většině států však jsou běžně jako bílkoviny stanovovány hrubé bílkoviny, pouze ve Francii jsou sledovány jen čisté bílkoviny.

Základní rozdělení dusíkatých látek mléka:

- 1) Kasein – komplex fosfoproteidů, které jsou syntetizovány mléčnou žlázou a tvoří
v mléce převládající část bílkovin. Z mléka je možno vysrážet okyselením při pH 4,6 a teplotě 20°C.
- 2) Syrovátkové bílkoviny (resp. bílkoviny mléčného séra) – globulární bílkoviny,
rozpustné při pH 4,6. Některé z nich jsou syntetizovány mléčnou žlázou. Tvoří asi 1/5 z obsahu čistých bílkovin.
- 3) Proteoso – peptony – tepelně stabilní fosfoproteidy, rozpustné při pH 4,6. Tvoří asi
2 až 6 % z čistých bílkovin.
- 4) Ostatní bílkoviny mléka – jedná se o řadu minoritních látek bílkovinné povahy
(enzymů lipoproteidů apod.)

5) Nebílkovinné dusíkaté látky – jedná se o velký počet látek, obsahujících dusík,

kteřé odpovídají 250 až 300 mg N v litru mléka (Gajdůšek, 2003).

2.3 Kaseiny

Kasein je hlavní bílkovinou mléka, syntetizovanou mléčnou žlázou. Jedná se o komplex frakcí fosfoproteidů u kterých je známa i aminokyselinová skladba a struktura. Základními frakcemi kaseinu jsou α_s , β a κ (kapa) – kasein, ostatní frakce kaseinu se považují za deriváty. Všechny frakce kaseinu mimo κ – kasein jsou vysoce citlivé na přítomnost vápníku v mléce. Proti vysrážení je chrání přítomnost κ – kaseinu.

Kasein je v mléce vázán na vápník. Tuto vápenatou sůl možno z mléka vysrážet kupř. působením ethanolu. Zředěnou kyselinou, ať již přidanou nebo vytvořenou mléčným kysáním, se sráží při pH 4,6 volný kasein. Působením enzymu chymosinu dochází k rozštěpení κ – kaseinu, který tím ztrácí svůj ochranný vliv na ostatní frakce, a veškeré frakce kaseinu se vysráží ve formě vápenatých solí. Obou těchto způsobů se používá k výrobě sýrů a to buď tzv. kyselých, srážením kaseinu působením kyselin, nebo sladkých, při srážení mléka chymosinem.

Převážná část kaseinových frakcí je v mléce od zdravých dojnic společně vázána do velkých koloidních útvarů, označovaných jako kaseinová micela. Kromě kaseinových frakcí byly v těchto micelách zjištěny i vápník, hořčík, citráty a fosfáty. Díky svému náboji jsou na povrchu těchto micel elektrostaticky vázány soli koloidního kalcium fosfátu a molekuly vody (Gajdůšek, 2003).

2.3.1. Alfa S kaseiny

α_s – kaseiny jsou hlavní složkou kaseinové frakce. Mléčnou žlázou jsou syntetizovány α_{s1} – kaseiny a α_{s2} – kaseiny (ve čtyřech resp. pěti genetických variantách lišících se primární strukturou). Nejvíce zastoupenou frakcí je α_{s1} – kasein B. Polypeptidový řetězec B α_{s1} – kaseinu se skládá ze 199 aminokyselin (molekulová hmotnost je 23,6 kDa, pI = 4,92 – 5,35). Na řetězci je 8 fosfoserinových zbytků lokalizovaných převážně v polohách 83 – 90, díky nimž je tato část molekuly polární. Nepochární postraní řetězce aminokyselin jsou situovány v polohách 100 – 199. V přítomnosti vápenatých iontů tvoří α_{s1} – kaseiny nerozpustnou vápenatou sůl. Kaseiny

α_{s2} mají podobnou strukturu (molekulová hmotnost je 25,2 kDa), nejsou však tak citlivé k přítomnosti vápenatých iontů jako α_{s1} – kaseiny (Gajdůšek, 2003).

2.3.1.1 Alfa S1 kaseiny

α_{s1} – CN se skládají z jedné velké a jedné malé části, obě mají stejnou aminokyselinovou sekvenci stanovenou GROSCLAUDEM et al. pro hlavní část. Existuje 5 genetických variant, které jsou označeny A, B, C, D, E v pořadí podle klesající elektroforetické mobility v alkalickém gelu obsahujícím močovinu. Malá složka, dříve označovaná jako α_{s0} – kasein, má stejnou aminokyselinovou sekvenci jako α_{s1} – kasein, ale obsahuje jedno dodatečně fosforylované serinové reziduum v pozici 41.

Je známo 6 genetických variant A, B, C, D, E a F. Rozdíly v primární struktuře proteinů je uvedena v tabulce č.1.

B varianta je predominantní u *Bos taurus*, C pro *Bos indicus* a *Bos grunniens*. Identifikací genotypové struktury populací ve světě se zabývalo mnoho vědeckých pracovníků (Havlíček, 1996).

Tabulka č. 1: Diference v aminokyselinách u různých polymorfních variant (MERCIER et al., 1971; EIGEL et al., 1984; ERHARDT, 1993b)

Lokus	Pol. var.	AMK na pozici			
		14 - 26	53	59	192
α_{s1} – CN	A	delece			
	B		Ala	Gln	Glu
	C				Gly
	D		ThrP		
	E			Lys	

2.3.1.2 Alfa S2 kaseiny

Primární struktura α_{s2} – CN byla popsána v páté revizi nomenklatury mléčných proteinů, jež je výsledkem zasedání Výboru nomenklatury a metodologie mléčných proteinů mlékařsko – potravinářské sekce při American Dairy Science Association. Skládají se z 207 aminokyselinových zbytků s molekulovou hmotností 25 230. Další složky mléčných bílkovin, dříve klasifikované jako α_{s3} – CN, α_{s4} – CN, α_{s5} – CN, α_{s6} – CN se jeví jako složky α_{s2} – CN skupiny. Rozbory jasně naznačily, že všechny mají stejnou aminokyselinovou sekvenci, ale liší se v obsahu fosforu. Přesné umístění fosfátových skupin u α_{s2} – kaseinů není dosud přesně určeno.

Diference mezi primárními strukturami polypeptidových řetězců jednotlivých genetických variant α_{s2} – CN, přesná lokalizace a počet fosfátových skupin u různých genetických komponent zůstávají stále neznámé.

Čtyři určené genetické varianty α_{s2} – CN jsou označeny jako A, B, C a D. A a D varianty byly pozorovány u evropských plemen skotu (*Bos taurus*). Elektroforetická mobilita varianty D byla pomalejší než elektroforetická mobilita varianty A. Varianta B byla popsána u *Bos taurus* a *Bos indicus* v nepálském údolí, varianta C byla pozorována specificky u jaků (*Bos grunniensis*) v témže regionu (Havlíček, 1996).

2.3.2 Beta kaseiny

β – kaseiny, vyskytující se v 7 genetických variantách, se skládají z 209 aminokyselin (molekulová hmotnost je 24 kDa, pI = 5,2 – 5,85). Obsahují pět fosfoserinových zbytků (v poloze 1 – 40), nepolární postraní řetězce aminokyselin jsou soustředěny v polohách 136 – 209. S vápenatými ionty poskytují sůl rozpustnou při teplotách 1°C a nižších, při vysokých teplotách nerozpustnou (Gajdůšek, 2003).

β – CN tvoří 25 – 35 % z celkových bílkovin mléka. Sráží se působením vápenatých iontů při teplotě 35°C. V porovnání α_s – CN obsahuje méně fosforu.

EIGEL et al. (1984) shrnul následující poznatky o β – CN takto. Primární struktura β – CN byla objasněna RIBADEU – DUMASEM a jeho spolupracovníky (1972). Na základě této struktury GROVES et al. (1972) dokázali, že proteiny dříve zvané 1-, 2-, 3- kaseiny jsou fragmenty β – CN obsahující rezidua 29 – 209, 106 – 209 a 108 – 209. Tyto fragmenty jsou uvolňovány při proteolýze mléka plasminem. Byly také uvolňovány N- terminální fragmenty β – CN uvolněné během degradace plasminem.

ANDREWS (1978) uvádí, že proteiny dříve nazývané proteoso – peptonové komponenty 5 a 8 – rychlý jsou identické s β – CN. Proteoso – pepton 8 – rychlý je tvořen zbytky 1 až 28 a složka 5 je tvořena zbytky 1 – 105 a 1 – 107. Fragmentsy uvolněné během proteolýzy plasminem jsou identické s proteoso – peptonovým komponentem 5. Tyto proteoso – peptony byly dříve označovány jako γ_1 -, γ_2 -, γ_3 – kaseiny. Zda proteolýza β – CN plasminem probíhá primárně v epitelových buňkách mléčné žlázy, nebo v alveolách a žlázových vývodných cestách, či během chlazení mléka, izolace proteinu a jeho čištění, není známo (EIGEL, 1984). Je známo sedm genetických variant β – CN, jejich rozdělení škrobovou elektroforézou je však komplikovanější, než u ostatních kaseinů. V alkalických gelech obsahujících močovinu migrují v pořadí A1 = A2 = A3 = B > D, E > C. Naproti tomu v kyselém prostředí je pořadí následující: C > B = D > A1 = E > A2 > A3. Ačkoli varianta A může být oddělena od variant B, C, D, a E elektroforézou v alkalickém prostředí, diferenciace variant A vyžaduje kyselé prostředí.

β – kasein A2 . 5P sestává z 209 aminokyselinových zbytků o vypočtené molekulové hmotnosti 23983. Celková délka genu je 8498 bp, strukturní gen je organizován do 9 exonů. Přehled o jednotlivých aminokyselinových rozdílech mezi jednotlivými genetickými variantami je uveden v tabulce č. 2 (Havlíček, 1996).

Tabulka č. 2: Diference v aminokyselinách u různých polymorfních variant (EIGEL, 1981; STEWART et al., 1987; LIEN et al., 1992)

Lokus	Pol. var.	AMK na pozici						
		18	35	36	37	67	106	122
β – CN	A1					His		
	A2	SerP	SerP	Glu	Glu	Pro	His	Ser
	A3						Gln	
	B					His		Arg
	C		Ser		Lys	His		
	D	Lys						
	E		Lys					

2.3.3 Kapa kaseiny

κ – kaseiny obsahují ve své molekule kromě fosforu také D–galaktopyranosa, N–acetyl-D-galaktosamin a N-acetylneuraminovou kyselinu. Hlavní složkou κ – kaseinu (56,0 %) je rozvětvený tetrasacharid, v menším množství se vyskytují κ – kaseiny s vázaným rozvětveným trisacharidem (18,5 %), s lineárním trisacharidem (18,4 %), disacharidem (6,3 %) a N-acetyl-D-galaktosaminem (0,8 %). Cukry jsou na protein vázány glykosidickou vazbou prostřednictvím N-acetyl- β -D-galaktosaminu (na threonin s pořadovým číslem 133). Vyskytuje se v 7 genetických variantách, z nichž nejvíce zastoupená je varianta B. Molekuly se vyskytují jako trimery a vyšší oligomery spojené vzájemně disulfidovými vazbami. S vápenatými ionty tvoří κ – kaseiny rozpustné soli stabilizující α_s a β kaseiny v přítomnosti iontů vápníku.

Při elektroforéze kaseinů jsou na elektroforeogramu zjišťovány i další frakce. Frakce, označené jako λ – **kasein** jsou fragmenty α_{s1} – kaseinu. Frakce, označované jako γ **kaseiny**, jsou produkty degradace β – kaseinu proteolytickými enzymy nativního mléka (nejčastěji plasminem). Vykazují nižší elektroforetickou mobilitu ($pI = 6,8 - 6,0$) než β – kaseiny. Odštěpením řetězce s aminokyselinami 1 – 28 vzniká γ_1 – **kasein** (zbytek 29 – 209, s molekulovou hmotností 20,5 kDa) a proteoso-pepton označený PP8F, γ_2 – **kasein** (zbytek 106 – 209, s molekulovou hmotností 11,8 kDa) odštěpením řetězce 1 – 105 a jako další γ_3 – **kasein** (zbytek 108 – 209, s molekulovou hmotností 11,6 kDa) odštěpením 1 – 107.

Kaseiny nejsou v mléce ve formě monomerů, ale jsou agregovány do kaseinových komplexů a micel. Kaseiny β - a γ - při teplotě okolo 20 °C snadno asociují do polymerních struktur, naopak při teplotách pod 8 °C zpětně disociují na monomery. K agregaci molekul α_s , β a κ – kaseinů jsou uspořádány nejprve do tzv. submicel tvaru rotačního elipsoidu po 25 až 30 molekulách. Nepolární části jednotlivých molekul jsou orientovány do centra submicely, kde se uplatňují hydrofobní interakce. Polární části molekul kaseinů, tzn. Fosfoserinové zbytky molekul α_s – kaseinů a β – kaseinů a threoninový zbytek s vaznými oligosacharidy v molekule (Gajdůšek, 2003).

Kapa – kasein izolovaný z mléka, se vyskytuje ve formě směsí polymerů spojených pomocí intermolekulárních disulfidických můstků.

Z hlediska svého složení, které podmiňuje stabilitu kaseinového komplexu včetně syrovátkových bílkovin, zaujímá κ – kasein v mléce vyjímečné postavení. V molekulách κ – CN je galaktóza a galaktosami. κ – CN je dále jedinou frakcí

kaseinu, která obsahuje sirmé aminokyseliny (cystein a methionin) a jako jediná frakce se nesráží vápenatými ionty. Je rovněž jedinou bílkovinnou složkou, která je v počáteční fázi štěpena působením chymosinu. Objevení polymorfismu κ – CN trvalo delší dobu, byl popsán až po přidání merkaptoetanolu, který způsobí redukcii intermolekulárních disulfidických vazeb κ – CN (Havlíček, 1996).

Tabulka č. 3: Rozdíly v AMK složení κ – CN (EIGEL et al., 1984; SCHLIEBEN et al., 1991; MIRANDA et al., 1993; PRINZBERG et al., 1996).

Lokus	Pol. var.	AMK na pozici				
		10	97	136	148	155
κ – CN	A	Arg	Arg	Thr	Asp	Ser
	B			Ile	Ala	
	C		His			
	E					Gly
	F	His				
	G		Cys			

Varianta A má tendenci být predominantní u většiny plemen. V alkalických podmínkách gelové elektroforézy za přítomnosti merkaptoethanolu a močoviny má varianta A vyšší mobilitu oproti ostatním variantám. Jednotlivá plemena se liší pouze ve výši frekvence této alely. Varianty κ – CN C a E byly nalezeny u plemen skotu pocházejících ze západních Alp a u skotu loeland frekvence alel laktoproteinů u plemene pincgavského a limpurgského. Jednotlivé genotypy byly detekovány metodou isoelektrické fokusace. Popsal variantu κ – CN G a κ – CN F. Rozdíly v primární struktuře κ – CN jsou zřetelné z tabulky č. 3 (Havlíček, 1996).

2.4 Genetické založení mléčných proteinů

Heterogenita mléčných proteinů je způsobena kodominantním působením alel autosomálních genů. Možnost šlechtění, která zahrnuje selekci specifických alel jednotlivých genů závisí od frekvence těchto alel v populaci. Je-li alela ojedinělá, pak je i selekce na tuto alelu omezená. V případě vysoké frekvence je malá možnost ke zvýšení četnosti této alely. Genetický progres je tedy ovlivněn i vazbou mezi alelami.

EENENNAAM a MEDRANO (1991) potvrdili, že jednotliv kaseinové geny jsou v jedné vazbové skupině, neboť na základě očekávaných alelických kombinací alely α_{s1} – CN a β – CN nebyly segregovány jednotlivě. Převažovaly kombinace α_{s1} – CN B, β – CN B, dále pak kombinace α_{s1} – CN C, β – CN A, zatímco kombinace α_{s1} – CN C, β – CN B byly ojedinělé. Toto bylo nakonec potvrzeno fyzikálním mapováním bovinního sérového albuminu (BSA).

Geny mléčných proteinů různých živočišných druhů byly klonovány ve větším počtu a některé z nich byly sekvenovány (Havlíček, 1996). Údaje o velikosti jednotlivých genů jsou uvedeny v následující tabulce č. 4.

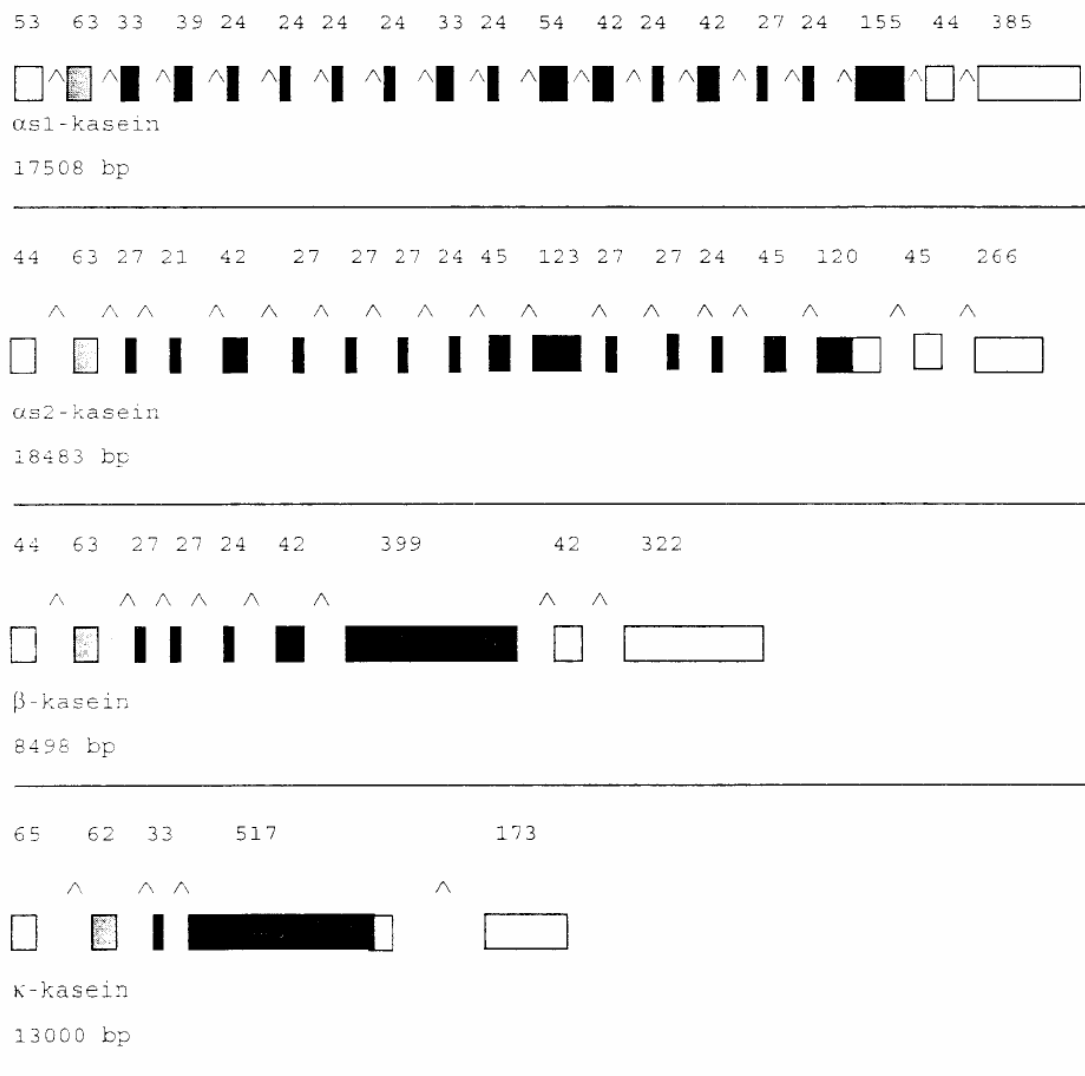
Tabulka č. 4: Nukleotidové sekvence genů mléčných proteinů (Havlíček, 1996)

Gen	Druh	Sekvence	Kompletní Délka genu
α_{s1} – CN	skot	kompletní	17508 bp
α_{s1} – CN	králík	kompletní	15975 bp
α_{s1} – CN	koza	parciální	19500 bp
β – CN	skot	kompletní	8498 bp
β – CN	ovce	parciální	8730 bp
β – CN	koza	parciální	9000 bp
β – CN	králík	kompletní	9875 bp
κ – CN	skot	parciální	130700 bp
β – LG	skot	kompletní	4723 bp
β – LG	ovce	kompletní	4662 bp

Kompletní délka genu α_{s1} – CN u skotu byla stanovena 17508 bp, α_{s2} – CN 18483 bp a u β – CN 8498 bp. Parciální struktura genu pak byla stanovena u κ – CN . Jeho délka byla odhadnuta na 130 700 bp.

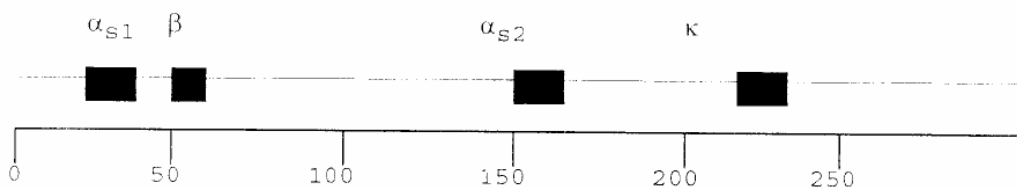
GROENEN et al . (1994) uvedli organizaci genů α_{s1} – CN, α_{s2} – CN, β – CN, κ – CN a β – LG. Jejich grafické znázornění je na obrázku č. 1, přičemž nevyplněné boxy znázorňují 5' a 3' nekódující oblasti, tmavší ukazují oblasti pro signální peptidy a tmavě

černě vybarvené pak oblasti genů kodujících proteiny. Číselné údaje určují délku jednotlivých oblastí v bp. Znak ^ představuje introny (Havlíček, 1996).

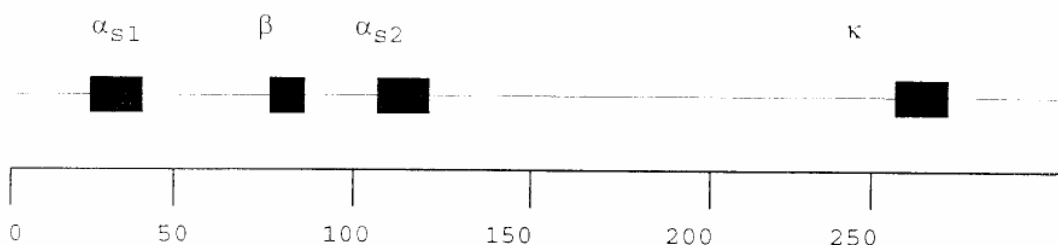


Obrázek č. 1: Organizace genů mléčných proteinů

Organizace genů kaseinových lokusů na šestém chromosomu skotu byla prezentována THREADGILEM a WOMACKEM (1990) a FERRETTIM et al . , 1990. Schematické znázornění těchto genů podle jednotlivých autorů je uvedeno na obrázcích č. 2 a 3. Měřítka pod obrázky vyjadřují délku chromosomu v kb.



Obrázek č. 2 : Organizace šestého chromosomu podle THREADGILA a WOMACKA (1990)



Obrázek č. 3 : Schematické znázornění šestého chromosomu (FERRETTE et al . , 1990)

2.5 Frekvence genotypů alel

2.5.1 Frekvence genotypů alel Alfa S1 kaseinu

U α_{s1} -kaseinu byly u sledovaných plemen detekovány celkem čtyři varianty označené A, B, C a D.

Varianty α_{s1} – CN A a D se vyskytují ojediněle. Alela α_{s1} – CN^D byla identifikována pouze u montbéliárdského plemene ve frekvenci 0,01. Ojediněle byla detekována i alela α_{s1} – CN^A. Toto zjištění se týkalo plemene holštýnského, zde byla frekvence této alely 0,003 -0,08. Varianta α_{s1} – CN B převládá u většiny kulturních plemen skotu. Varianta α_{s1} – CN C má převážně podstatně nižší frekvenci ve srovnání s variantou α_{s1} – CN B, i když existují rozdíly mezi plemeny.

Většina autorů ve svých pracích uvádí pouze přehled o frekvencích alel, někteří však uvádějí i frekvence genotypů. Přehled o jejich frekvencích je v tabulkách č. 6 a 7. (Havlíček, 1996)

Tabulka č. 5 : Charakteristika genetických variant mléčných proteinů (Havlíček, 1996)

Protein	genetická varianta	molekulová hmotnost	isoelektrický bod
α_{s1} – CN	A	22068	5,15
	B	23614	4,92-5,05
	C	23542	5,00-5,35
	D	23742	5,00-5,35
	E	23724	
β – CN	A ¹	24023	5,41
	A ²	23983	5,30
	A ³	23974	5,20
	B	24092	5,53
	C	23944	5,85
	D	23944	
	E	23982	
κ – CN	A	19039	5,77
	B	19007	6,07
β – LG	A	18363	5,35
	B	18277	5,41
	C	18286	5,39
	D	18276	
	E	18205	
	F	18243	
	G	18223	

Tabulka č. 6 : Frekvence alel α_{s1} – CN (Havlíček, 1996)

Plemeno	n	Četnost alel α_{s1} – CN			
		A	B	C	D
Český strak.	337	-	0,875	0,125	-
Český strak.	610	-	0,86	0,14	-
Fleckvieh	1706	-	0,90	0,10	-
Český strak.	480	-	0,858	0,142	-
Český strak.	144	-	0,92	0,08	-
Slov. strak.	170	-	0,90	0,10	-
Slov. strak.	129	-	0,98	0,02	-
Pinzgavské	148	-	0,86	0,14	-
Pinzgavské	353	-	0,721	0,279	-
Montbeliard	646	-	0,87	0,13	0,01
Ayshire	78	-	1,00	-	-
Švýc. Hnědé	50	-	0,86	0,14	-
Čern. nížinné	645	-	0,958	0,042	-
Čern. nížinné	139	-	0,69	0,31	-
Čern. nížinné	144	-	0,97	0,03	-
Holštýnské	542	0,08	0,87	0,05	-
Holštýnské	6874	0,003	0,957	0,040	-
Holštýnské	2005	-	0,983	0,017	-
Holštýnské	2045	0,003	0,970	0,027	-
Holštýnské	580	-	0,98	0,02	-
Holštýnské	1152	-	0,990	0,010	-
Holštýnské	783	0,003	0,98	0,02	-
Holštýnské	280	-	0,975	0,025	-
Jersey	208	-	0,628	0,372	-
Jersey	172	-	0,68	0,32	-
Jersey	186	-	0,72	0,28	-
Guersey	40	-	0,88	0,12	-

Tabulka č. 7 : Frekvence genotypů α_{s1} – CN (Havlíček, 1996)

Plemeno	N	α_{s1} – CN		
		BB	BC	CC
Fleckvieh	2626	84,54	4,58	0,88
Ayshire	78	100	-	-
České strakaté	294	84,7	13,3	2,0
Slov. strakaté	129	95,3	4,7	-
Slov. strakaté	-	91,5	8,5	-
Holštýnské	280	95,0	5,0	-
Čern. nížinné	645	91,6	8,4	-

2.5.2 Frekvence genotypů alel Beta kaseinu

Beta-kasein je nejsložitějším systémem mléka. Bývá zde také nalézána největší variabilita. U většiny plemen má převládající zastoupení alela β – CN^A. V alkalickém prostředí se tato varianta jeví jako homogenní. Její frekvence je na úrovni 0,82-0,98; frekvence alely β – CN^B je v rozmezí 0,15-0,4; alely β – CN^C pak v rozmezí 0,01-0,06. Přehled frekvencí alel β – CN získaných elektroforézou v alkalickém prostředí je uveden v tabulce č. 8.

Při elektroforéze v kyselém prostředí je možno rozdělit variantu proteinu β – CN A na varianty A¹, A² a A³. Z těchto alel u většiny plemen převažuje zastoupení alely β – CN A². Výjimkou je černostrakaté nížinné plemeno, kde frekvence alely β – CN A¹ byla 0,781. Alela β – CN A³ byla nalezena pouze u některých plemen. Frekvence alel β – CN podle různých autorů, kteří využili pro detekci elektroforézu v kyselých podmínkách, je uvedena v tabulce č. 9 (Havlíček, 1996).

Tabulka č. 8 : Frekvence alel β – CN (alkalické prostředí) (Havlíček, 1996)

Plemeno	n	β – CN		
		A	B	C
České strakaté	611	0,95	0,04	0,01
Slov. Strakaté	170	0,89	0,05	0,06
Slov. Strakaté	129	0,82	0,07	0,11
České strakaté	144	0,98	0,01	0,01
Pincgavské	148	0,89	0,05	0,06
Ayshire	78	1,0	-	-
Holštýnské	542	0,98	0,02	0,00
Holštýnské	783	0,97	0,03	-
Holštýnské	580	0,927	0,073	-
Čern. nížinné	144	0,96	0,04	-
Persey	186	0,66	0,354	-

Tabulka č. 9 : Frekvence alel β – CN (kyselé prostředí) (Havlíček, 1996)

Plemeno	n	β – CN				
		A ¹	A ²	A ³	B	C
Fleckvieh	1706	0,30	0,59	0,01	0,09	0,01
Montbeliard	646	0,22	0,60	-	0,17	0,01
Švýc. hnědé	50	0,18	0,66	-	0,16	-
Holštýnské	280	0,425	0,555	0,004	0,021	-
Holštýnské	1152	0,43	0,55	-	0,02	-
Čern. nížinné	645	0,781	0,204	-	0,015	-
Guersey	40	-	0,96	-	-	0,04
Persey	172	0,17	0,50	-	0,33	-
Shorthorn	40	0,49	0,49	-	0,02	-

Tabulka č. 10 uvádí frekvence genotypů β – CN českého strakatého a slovenského strakatého plemene.

PUTZ et al . (1992) provedl analýzu u 2626 dojnic plemene fleckvieh. Frekvence genotypů byly následující : A_1A_1 -5,20; A_1B -4,16; A_1C -0,73; A_2A_1 -30,93; A_2A_2 -45,57; A_2B -10,79; A_2C -1,73; A_3A_2 -0,08; BB -0,65; BC -0,15. Poznatky frekvenci genotypů β – CN rozšířil PANICKE et al . (1996), který uvádí u 280 dojnic holštýnského plemene tyto frekvence: A_1A_1 -17,5; A_1B -1,8; A_2A_1 -47,5; A_1A_3 -0,7; A_2A_2 -30,0; A_2B -2,5.Dále pak ve stejné publikaci uvedl výsledky analýzy 645 dojnic černostrakatého plemene, kde byly uvedeny následující frekvence: A_1A_1 -60,9; A_1B -2,5; A_2A_1 -31,8; A_2A_2 -4,3; A_2B -0,3 a BB -0,2.

Tabulka č. 10: Frekvence genotypů β – CN (Havlíček, 1996)

Plemeno	N	β – CN					
		AA	AB	BB	AC	BC	CC
České strak.	294	83,0	10,2	1,0	5,8	-	-
Slov. strak,	128	21,9	60,2	17,9	-	-	-
Slov. strak,	-	67,5	15,2	1,2	13,1	2,0	1,0

2.5.3 Frekvence genotypů alel kapa kaseinu

Kapa-kasein byl považován za nejjednodušší genetický systém s dvěma alelami κ – CN^A a κ – CN^B . Převažuje alela κ – CN^A . Výjimky, kde byl vyšší výskyt alely κ – CN^B (frekv. 0,6) byly u souborů plemene montbeliárdského a švýcarského hnědého a plemeno jerseyké s frekvencí této alely 0,85.

ERHARD (1996) navíc u 353 dojnic pincgavského plemene našel mimo běžné alely κ – CN^A a κ – CN^B s frekvencemi 0,783 a 0,211 i méně častou alelu κ – CN^C -0,003 a nově odhalenou alelu κ – CN^G s frekvencí 0,003.

Z pohledu na frekvence genotypů κ – CN (tab. Č. 11) je zřejmé nejvyšší zastoupení genotypů κ – CN AA a κ – CN AB, dále pak následuje typ genotypu κ – CN BB. Nejmenší zastoupení mají genotypy obsahující alely κ – CN^C a κ – CN^N . Tyto je třeba posuzovat pouze orientačně, neboť mohou být detekovány pouze na molekulární úrovni DNA. Tyto přesnější, ale finančně náročnější metody jsou využívány pouze

krátkou dobu a proto není pro srovnání větší množství informací. Alela $\kappa - \text{CN}^G$ byla poprvé detekována o plemene pinzgavského metodou IEF s pomocí ampholytů pH 3,0-7,7 na ultratenkém polyakrylamidovém gelu. V této práci se autor dále zmiňuje o variantě $\kappa - \text{CN}^F$, kterou pojmenoval podle Finska, kde byla detekována.

Tabulka č. 11: Frekvence genotypů $\kappa - \text{CN}$ u různých plemen (Havlíček, 1996)

Plemeno	N	$\kappa - \text{CN}$							
		AA	AB	BB	EE	AC	AE	BC	EB
Slov. Strak.	1269	21,0	64,0	15,0					
Slov. Strak.		29,7	59,4	10,9					
Pinzgavské	22	55,0	27,0	18,0					
České strak.	277	23,1	65,0	11,9					
Fleckvieh	2626	57,2	33,3	5,3		3,1	0,0	0,1	0,0
Slov. Strak.	60	45,0	43,0	12,0					
Čes. červinka	25	24,0	55,0						0,2
Černostr. níž.	645	54,0	27,3	2,3	0,8		13,0		2,6
Černostr. níž.	123	42,0	46,0	12,0					
Holštýnské	11	73,0	18,0	9,0					
Holštýnské	56	28,0	67,0	5,0					
Holštýnské	280	68,2	22,5	1,1	0,7		6,1		1,4

2.6 Vztah kaseinů k mléčné užitkovosti

2.6.1 Vztah alfa S1 kaseinu k mléčné užitkovosti

ALEANDRI (1990) studoval asociace genotypu $\alpha_{s1} - \text{CN}$ k užitkovým vlastnostem u 2005 dojnic holštýnsko-frízského plemene na první laktaci. U dojnic s genotypem $\alpha_{s1} - \text{CN}$ BB byla vyšší produkce mléka o 294 kg, produkce tuku pak o 16 kg oproti dojnicím genotypu $\alpha_{s1} - \text{CN}$ BC. Tento genotyp byl významně spjat s procentickým obsahem bílkovin. Podobný výsledek již dříve uvedl u českého

strakatého plemene MÁCHA (1990), neboť u dojnic českého strakatého skotu našel významné rozdíly v % obsahu bílkovin. Dojnice genotypu α_{s1} – CN BB produkovaly mléko s obsahem bílkovin 3,401 %, zatímco s genotypem α_{s1} – CN BC 3,498 %. Naproti tomu GAJDŮŠEK (1990) neprokázal vztah genotypu α_{s1} – CN k produkci mléka, či jeho složení.

Rozsáhlou studii dále zveřejnili EENENNAAM a MEDRANO (1991). Vyhodnotili 1165 prvních laktací holštýnského plemene. U dojnic s genotypem α_{s1} – CN AB byla zjištěna nejvyšší produkce mléka, 7196 kg (4,323 % tuku a 3,581 % bílkovin) oproti genotypům α_{s1} – CN BB – 6853 kg mléka (4,287 % tuku a 3,571 % bílkovin), α_{s1} – CN BC – 6945 kg mléka (4,261 % tuku a 3,620 % bílkovin) a α_{s1} – CN CC – 6952 kg mléka (4,274 % tuku a 3,656 % bílkovin). K údajům uvedeným pro genotyp α_{s1} – CN AB je třeba uvést, že tato hodnota byla zjištěna v souboru pouze 7 dojnic.

MCLEAN et al. (1984) sledovali asociaci genotypů α_{s1} – CN k procentickému obsahu jednotlivých typů proteinů v mléce. Po eliminaci faktorů stáda, roku, sezóny, obsahu somatických buněk, produkce mléka a obsahu tuku, byl zjišťován vztah polymorfismu mléčných bílkovin k jednotlivým složkám bílkovin. Mléko dojnic s genotypem α_{s1} – CN BC obsahovalo více α_s – CN a méně β – LG, než mléko dojnic genotypu α_{s1} – CN BB, nebo CC. Rovněž KWAI – HANG et al. (1987) našli nejvyšší obsah α_s – CN a nižší obsah β – LG v mléce dojnic genotypu α_{s1} – CN BC, oproti mléku dojnic s genotypem α_{s1} – CN AB, či BB. Statisticky významný vztah α_{s1} – CN byl podle HANUŠE (1995) nalezen k obsahu syrovátkových bílkovin (BC > BB) a obsahu sušiny (BC > BB) (Havlíček, 1996).

Analýza produkce laktózy potvrzuje určitou typovou selekci mezi projevem uvedené užitkové vlastnosti a genetickými polymorfními znaky α_{s1} – kaseinu. Heterozygotní, resp. homozygotní forma genotypů α_{s1} – kaseinu zvyšuje hladinu produkce laktózy s pořadím laktace. Zajímavé je porovnání obou variant genetického polymorfismu při celkovém zhodnocení všech testovaných laktací, kdy dojnice s genotypem BC dosáhli signifikantně vyšší produkci laktózy ($P \leq 0,05$) o 23 kg než dojnice s variantou BB α_{s1} – kaseinu (Žitný, 1997).

2.6.2 Vztah beta kaseinů k mléčné užitkovosti

NG – KWAI – HANG et al. (1984) uvádějí, že alela β – CN A3 je signifikantně spjata s produkcí mléka za laktaci. O dva roky později, NG – KWAI – HANG et al. (1986) stanovili genotypy u 1908 holštýnsko-frizských dojnic a své výsledky potvrdili, neboť alela β – CN A3 byla v asociaci k vyšší produkci mléka oproti alele β – CN B. Ve svých sledováních zaznamenali rozdíl 2,52 kg mléka za den na dojnici v testu u dojnic s genotypem A1A3 (22,41 kg mléka, 3,63 % tuku, 3,37 % proteinu a 2,65 % kaseinu) a dojnicemi s genotypem A1B (19,89) kg mléka, 3,92 % tuku, 3,48 % bílkovin a 2,78 % kaseinu). Genotyp β – CN A1B byl spjat s nejvyšším procentickým obsahem složek.

NG – KWAI – HANG et al. (1987) našli signifikantní vliv β – CN na koncentraci α_s – CN, β – CN, β – LG, α – LA a Ig. Heterozygoti A1B a A2B vykazovali nejnižší obsah α_s – kaseinu a nejvyšší obsah β – kaseinu, zatímco genotyp A2A3 byl spjat s nejvyšším obsahem α_s – kaseinu a nejnižším obsahem β – kaseinu. Nízké koncentrace β – LG a Ig u dojnic genotypu β – CN A2B byly kompenzovány vyšší koncentrací α – LA. Naproti tomu u dojnic genotypu β – CN A1A3 byl nejvyšší obsah β – LG a Ig, nejnižší α – LA. PANICKE (1996) u černostrakatého plemene alelu β – CN A3 neidentifikoval. Z jeho výsledku je však zřejmý pozitivní efekt o 207 kg a 122 kg mléka u genotypu β – CN A2A2 oproti genotypům β – CN A1A2 a A1A1. Signifikantně vyšší procentický obsah tuku byl spjat s genotypem β – CN A1A1 oproti genotypům β – CN A1A2 a β – CN A2A2 (Havlíček, 1996).

FAHR a LENGERKEN (1996) rovněž u černostrakatého skotu uvádějí statisticky významně příznivý vliv genotypu A2A2 na produkci mléka, tuku, a bílkovin v kilogramech. SCHLEE a ROTTMANN (1992c) uvádějí, že alela A2 zvyšuje produkci mléka, proteinů a tuku více než alela A1 (Čítek, 1997).

2.6.3 Vztah kapa kaseinů k mléčné užitkovosti

U populace slovenského strakatého skotu byla nejvyšší mléčná užitkovost u plemenic CSN3 AA a naopak nejnižší mléčná užitkovost u plemenic genotypu BB. Plemenice genotypu BB však vykazaly nejvyšší procento bílkovin a tuku. Naopak nejvyšší procento bílkovin a zároveň nejvyšší mléčnou užitkovost byla zjištěna u krav s genotypem BB (Kučerová, 2004).

Podnětnou práci zveřejnili EENENNAAM a MEDRANO (1991), kteří u 1152 kusů krav holštýnského plemene na první laktaci vyhodnotili asociace genotypů κ – CN. Mléko dojnic genotypu κ – CN BB obsahovalo 4,261 % tuku a 3,644 % bílkovin; genotypu κ – CN AB 4,277 % tuku a 3,600 % bílkovin; genotypu κ – CN AA pak 4,321 % tuku a 3,578 % bílkovin. Podobnou závislost užitečnosti na genotypu potvrdily i výsledky, které uvedli NG – KWAI – HANG (1993) a GELDERMANN (1993). Podle těchto autorů také koreluje vyšší obsah bílkovin s vyšším obsahem kaseinu v mléce. Zvýšený obsah κ – CN má za následek přítomnost menších micel, což pozitivně ovlivňuje vlastnosti sýření a sýřeniny, ale i redukcí obsahu tuku v séru (Havlíček, 1996).

Sledujeme-li genotyp κ – CN ve vztahu k produkci mléka, dostaneme na tuto otázku různé odpovědi. Podle EENENNAAMA a MEDRANA (1991) koreluje s vyšší dojitostí genotyp κ – CN BB. Ve své práci uvádějí tyto výsledky: κ – CN AA – 6839 kg mléka, κ – CN AB – 6985 kg mléka a κ – CN BB – 7135 kg mléka.

PANICKE et al. (1996) zahrnuli do vyhodnocení i genotypy κ – CN, ve kterých se, i když s nízkou frekvencí, vyskytuje alela κ – CN E. Produkce mléka byla podle genotypů κ – CN následující: AB > AA > BB > AE > EE > BE. Rozdíly v produkci však nebyly signifikantní.

ROUTTINEN et al. (1996) studovali asociace genotypu κ – CN k uživatelským vlastnostem (produkce mléka, tuku a bílkovin v kg, % obsah tuku a bílkovin), přičemž využili k vyhodnocení 20590 laktací finských ayširských dojnic metody BLUP. Genotyp κ – CN BB byl spjat s vyšší plemennou hodnotou pro procentický obsah bílkovin a tuku, u genotypů κ – CN AB a BE byly oproti ostatním statisticky vysoce významně vyšší plemenné hodnoty pro produkci tuku a bílkovin.

Byly provedeny práce týkající se vztahů genetické variability laktoproteinů k jednotlivým složkám proteinů. NG – KWAI – HANG et al (1986) našli ve svých sledováních asociaci κ – CN BB k vyššímu obsahu kaseinu a nižšímu obsahu sérových proteinů oproti genotypům κ – CN AA a AB. Genotyp κ – CN BB je tedy spjat s vyšším obsahem α_s – CN, κ – CN a nižším obsahem β – LG a α – LA. MCLEAN et al. (1984) našli podobný vliv κ – CN variant na koncentrace κ – CN, β – LG a α – LA, vliv κ – CN variant na obsah α_s – CN však nebyl průkazný. GELDERMANN (1993) dává do souvislosti genotyp κ – CN BB s vyšší produkcí proteinu, s vyšším procentickým obsahem kaseinu a nižším obsahem syrovátkových bílkovin. Pro genotyp κ – CN AA je

charakteristický vyšší β – LG obsah. Podobný výsledek zjistil HANUŠ (1995) u dojnic českého strakatého a černostrakatého skotu. Vliv κ – CN byl významný u kaseinového čísla (BB > AB > AA). CREANGA et al. (1996) uvádějí u dojnic rumunského černostrakatého plemene genotypu κ – CN AA procentický obsah bílkovin 3,26 %, u dojnic genotypu κ – CN AB 3,13 % a u dojnic genotypu κ – CN AA 3,00 %. Tyto rozdíly však nebyly statisticky významné (Havlíček, 1996).

2.7 Kaseiny a technologické vlastnosti mléka

2.7.1 Alfa S1 kasein a technologické vlastnosti mléka

Pohledů na účinek α_{s1} – kaseinových variant pro dobu sýření není mnoho. Toto je způsobeno v důsledku malé variability v tomto systému.

MÁCHA et al. (1974) a MARIANI et al. (1988) publikovali, že alela α_{s1} – CN C je spjata s větší tuhostí sýřeniny oproti sýřenině vyrobené z mléka genotypu α_{s1} – CN BB. GRAML et al. (1988) dávají alelu α_{s1} – CN C do vztahu s lepšími sýrařskými vlastnostmi. SADLER et al. (1988) uvádějí, že α_{s1} – CN A má spojení s vodnatým tvarem (Havlíček, 1996).

2.7.2 Beta kasein a technologické vlastnosti mléka

Z dostupných údajů vyplývá, že doba sýřeniny a tvorba sýřeniny je ovlivňována beta-kaseinovými variantami. Nicméně nálezy týkající se alely β – CN A (β – CN A1, β – CN A2, β – CN A3) je třeba posuzovat s ohledem vysokou variabilitu v tomto genu. Přesto je však možno konstatovat, že mléko obsahující β – CN variantu B, konkrétně typ β – CN BB, vykazovalo kratší dobu anulace. Sýřenina z mléka tohoto typu byla oproti sýřenině typu β – CN AA též pevnější (Havlíček, 1996).

Stejně tak tomu je i u alely β – CN C, která je spjata s podobnými vlastnostmi jako alela β – CN B. Genotyp β – CN AC byl dáván do vztahu s tužší sýřeninou JAKOB a PUHAN (1986). Tento výsledek však nebyl potvrzen výzkumnou skupinou PAGNACCO a CAROLI (1987).

Podle HANUŠE (1995) se vliv beta-kaseinu jevil jako významný pro čas koagulace (AB, AC < AA) (Havlíček, 1996).

2.7.3 Kapa kasein a technologické vlastnosti mléka

Některé práce prokázaly příznivý vliv varianty κ – CN B na vhodnost mléka k výrobě sýrů. U mléka obsahujícím kapa-kasein BB je doba koagulace (v porovnání s typem AA) kratší o 24 %. Konzistence sýřeniny je vyšší o 37 %. Toto vysvětlují PUHAN a JAKOB (1993). Uvádějí totiž, že pro mléko genotypu κ – CN BB je velikost kaseinových micel o 40 % menší, což umožňuje lepší srážecí vlastnosti. Pevnější konzistenci pak vysvětlují tím, že sýřenina vyrobená z tohoto typu mléka ztrácí během 24 hodin přibližně 15 % hmotnosti, což souvisí s lepší synerzí. Nicméně výtěžnost finálního produktu je o 5 – 10 % vyšší. MORINI et al. (1979) popsali u těchto sýrů i lepší degustační vlastnosti.

U českého strakatého a černostrakatého nížinného plemene se této problematice věnoval HANUŠ (1995). Ten zveřejnil, že vliv κ – CN byl významný u času koagulace (AA > AB > BB) a jakosti (pevnosti) sýřeniny (AA > AB > BB).

Ačkoli výskyt genotypů κ – CN obsahujícího alelu κ – CN E není vysoký, je naší snahou získat znalosti o této variantě. JAKOB a PUHAN (1993) uvedli, vliv κ – CN E na technologické vlastnosti je podobný jako u alely κ – CN A (Havlíček, 1996).

2.7.4 Kombinace genotypů a technologické vlastnosti mléka

Většina autorů se shoduje na vhodné kombinaci β – CN BB a β – LG BB. U ostatních polymorfních bílkovin už tak jednoznačné výsledky nejsou. Podle GAJDUŠKA (1985) probíhá rychleji srážení mléka od dojníc s genotypem α_{s1} – CN BC, β – CN AB, κ – CN BB nebo α_{s1} – CN BB, β – CN BB, κ – CN BB a vytvořená sraženina je pevnější v porovnání s jinými genotypy.

PUHAN a JAKOB (1993) uvádějí jako nejvýhodnější kombinaci genotypů α_{s1} – CN CC, β – CN BB, κ – CN BB a β – LG BB. Tato kombinace se však vyskytuje velmi vzácně.

Existuje názor, že tyto asociace platí pouze u syrového mléka, u pasterizovaného nikoli. HANUŠ (1995) testoval vliv pasterizace na sýřitelnost mléka. Z jeho výsledků vyplývá, že pasterizace zhoršila celkově sýřitelnost, přesto si však varianta κ – CN B podržela zřetelně lepší sýřitelnost oproti variantě κ – CN A i po provedené pasterizaci (Havlíček, 1996).

2.8 Kaseiny v kozím mléce a vliv na jeho kvalitu

Genetický polymorfismus u kozího mléka má své specifika. U jako jediného druhu (Koža domácí – *Capra Hircus*) je nulová alela variabilní u třech mléčných kalcium–senzitivních kaseinových frakcí. Z pohledu molekulární genetiky, představuje kozí mléko rozsáhlý komplex variant, hlavně pro kaseinové frakce, u syrovátkových bílkovin je nižší zastoupení variant. Následný popis jednotlivých kaseinových frakcí nám poskytne hlubší poznatky o kvalitě mléka (celkové kompozice kozího mléka) a jak ovlivňují jednotlivé geny kvalitativní a kvantitativní vlastnosti mléka (Sztankóová, 2006).

2.8.1 Alfa S1 kasein a jeho vliv na kvalitu kozího mléka

AlfaS1 kaseinový gen je citlivý na přítomnost vápenatých iontů. V přítomnosti vápenatých iontů tvoří kasein nerozpustnou vápenatou sůl. Fragmenty tohoto lokusu se považují za – kasein. Je popsán 18 autozomálními alelami (alely vázané na nepohlavní chromozóm), které jsou rozdělené do čtyř skupin, podle množství syntetizovaného proteinu v mléce, na tzv. silné alely: A, B1, B2, B3, B4, C, H, K, L a M (3,4–4,2g/l); středně silní: E a I (1,1–1,7g/l); slabé: D, F, G a N (0,4–0,6g/l) a tzv. nulové: 01 a 02 (vyznačující se absencí proteinů v mléce). Typ mléka A (silné alely) má pozitivní účinek na složení mléka – kaseinů (g/kg), koagulační parametry, na obsah tuků, na celkovou sušinu a proteiny. Opačný vliv má na průměr micel, jsou menší i obsah vápníku je nižší v porovnání s mlékem typu F (slabé alely). U mléka typu F se setkáváme s většími micelami než varianty A, B a E. Má lepší vlastnosti pro tepelnou stabilitu a obsahuje vyšší zastoupení lipolýzy než mléko typu A. Další zvláštností tohoto lokusu je, že se snižuje množstvím AS1 kaseinu, se zvyšuje relativní množství beta, kapa a alfaS2 kaseinů, jako i průměr micel se zvětšuje. Tento lokus se vyznačuje nespočetnými variantami. Jejich kombinacemi můžeme získat rozličné množství vytvořených proteinů v mléce v porovnání s kravským. Kombinace dvou variant (genotyp) ovlivňuje celkový protein, celkový kasein a obsah tuku. AS1 kaseinu významně ovlivňuje koagulační vlastnosti mléka, celkový obsah kaseinu v mléce, výtěžnost sýra, sensorické a technologické vlastnosti. Předpokládá se, že hraje významnou roli při vlastnostech micel, které určují kvalitu sraženiny (Sztankóová, 2006).

2.8.2 Alfa S2 kasein a jeho vliv na kvalitu kozího mléka

Kasein alfaS2 má podobnou strukturu jako alfaS1. Není ale tak citlivý na přítomnost vápenatých iontů jako alfaS1. Podle množství syntetizovaných proteinů v mléce jsou varianty rozdělené do třech skupin na silné alely: A, B, C, E, F a G (2,5g/l); středně silné alely: D a tzv. nulová alela 0 (absence proteinů v mléce). Doposud jeho efekt a funkce nebyla jednoznačně popsána a je předpoklad, že spolu s ostatními kaseinovými frakcemi se podílí na senzoryckých a technologických vlastnostech mléka (Sztankóová, 2006).

2.8.3 Beta kasein a jeho vliv na kvalitu kozího mléka

Beta kasein se řadí stejně jako alfaS – kaseiny mezi fosfoproteiny, obsahuje fosfoserinové zbytky. S vápenatými ionty poskytuje sůl rozpustnou při teplotách 1°C a nižších, při vyšších teplotách nerozpustnou. Je popsán na úrovni DNA. Existují čtyři varianty: A, B, C a nulová alela. Na úrovni proteinů byla D varianta popsána, doposud nebyla potvrzená výzkumy. Obsah β - a γ - kaseinu (počítají se spolu, protože γ - kasein je proteolytický produkt beta kaseinu) se snižuje, když velikost micel se zmenšuje. Má značný vliv na technologické zpracování mléka, na dobu srážení jakož i na velikost micel. Nulová alela má negativní vliv na technologické vlastnosti, prodlužuje čas srážení a pevnost sraženiny je slabší (Sztankóová, 2006).

2.8.4 Kapa kasein a jeho vliv na kvalitu kozího mléka

Kapa kasein tvoří rozpustné soli stabilizující alfa S a beta kasein v mléce s přítomnosti iontů Ca^{2+} . Vyznačuje se rozsáhlou diverzí alel – variant, je rozdělen do dvou skupin podle isoelektrického bodu (IP). Je to bod v elektrickém nosiči, kdy poměr $^{28+}$ a $-$ náboje proteinů je vyrovnaný a disociace je v rovnováze. Skupinu A představují následující alely: D, E, K a M (IP = 5,66) a B skupinu tvoří alely: A, B, C, X, Y, C', F, G, H, I, J, L, B' a B'' (IP = 5,29). Významnou roli sehrává ve formování, stabilizaci, agregaci micel a též určuje funkci micel, ovlivňuje technologické vlastnosti mléka. Při zvětšení průměru micel se zvyšuje procentuální obsah kapa kaseinu v mléce (Sztankóová, 2006).

2.9 Vliv genetické varianty na technologické vlastnosti sýrů

2.9.1 Čerstvé sýry

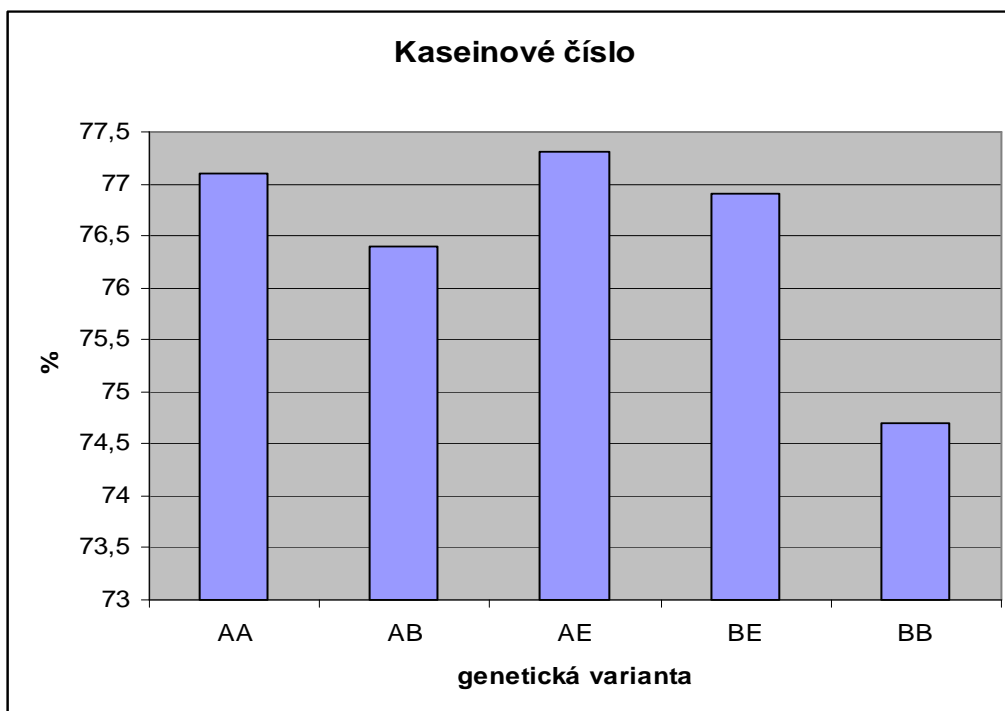
Hodnocení výsledků mléka pro výrobu čerstvých sýrů charakterizuje tabulka 12. Zjištěné hodnoty sýřitelnosti se pohybovaly okolo horní hranice doporučených hodnot – 420 s. Nejvyšších hodnot bylo dosaženo u variant AE (Marková, 2004).

Tabulka 12: Výsledky rozborů mléka pro výrobu čerstvých sýrů (Marková, 2004)

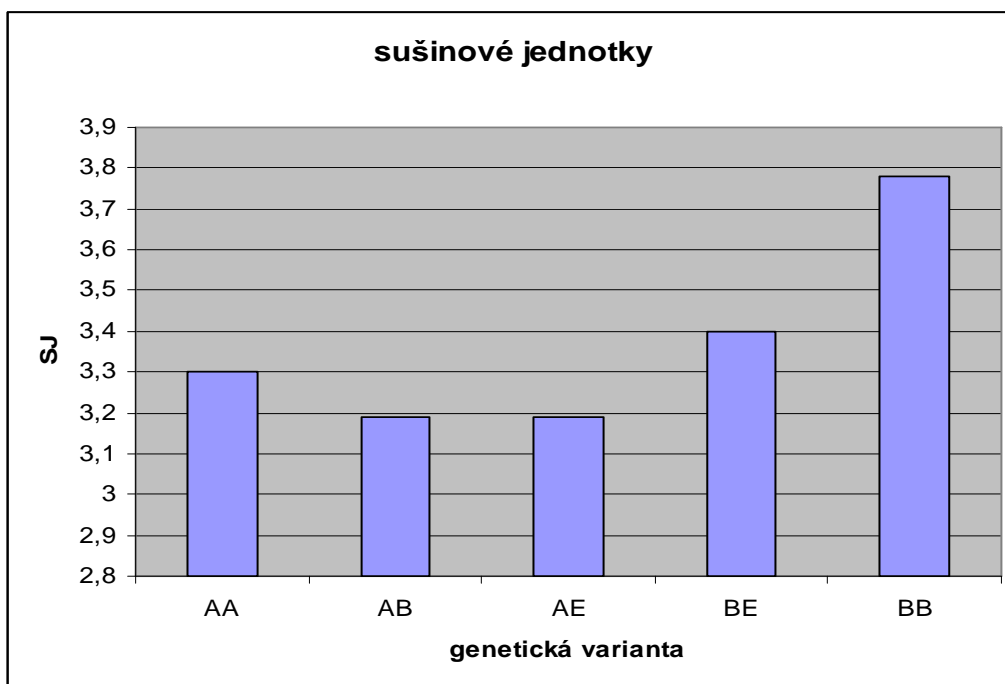
Analýza	jednotky	Kapa kasein				
		AA	AB	AE	BE	BB
Syrové mléko						
Tuk	g/100ml	4,27	4,56	4,56	4,52	4,95
Bílkoviny	%	3,25	3,32	3,26	3,34	3,34
Laktóza	%	4,94	4,83	4,96	4,94	4,94
SNF	%	8,72	8,71	8,68	8,81	8,82
TS	%	12,87	13,20	13,13	13,21	13,67
Kasein	%	2,50	2,53	2,53	2,56	2,50
Nebilk. Nlátky	%	0,23	0,24	0,21	0,24	0,24
Syrovátk. Bílk.	%	0,52	0,55	0,54	0,54	0,60
Čisté bílk.	%	3,02	3,08	3,07	3,10	3,09
Močovina	mg/l	289	312	286	318	306
Obsah vápníku	mg/100ml	103,8	101,1	98,9	95,7	105,4
Sýřitelnost	s	400	386	431	420	346

U syrového mléka bylo z hodnot obsahu bílkovin zjištěno kaseinové číslo (podíl kaseinu z bílkovin). Průměrné hodnoty (viz. graf 1) se pohybovaly od 74,7 % (BB) do 77,3 % (AE) (Marková, 2004).

Graf číslo 1: Kaseinové číslo – mléko na výrobu čerstvých sýrů (Marková, 2004)



Graf 2 :Sušínové jednotky – výroby čerstvých sýrů (Marková, 2004)



Při hodnocení čerstvých sýrů byly po stanovení obsahu tuku a sušiny vypočteny sušínové jednotky (viz. graf 2). Pro porovnání byly použity průměrné hodnoty sušínových jednotek pro jednotlivé varianty, které se pohybovaly od 3,19 (AB, AE) do

3,78 (BB). U varianty BB byly vzhledem k nízké frekvenci genotypů ve stádě provedeny pouze 3 výroby sýrů.

U varianty AE bylo zjištěno nejvyšší kaseinové číslo a současně nejnižší obsah sušinyvých jednotek. Tuto skutečnost lze vysvětlit rozdílnými vlastnostmi variant při tepelném zpracování, které je součástí zpracování mléka na sýřeninu, čímž může mít vliv na hodnotu sušinyvých jednotek.

Při sensorickém hodnocení čerstvých sýrů skupinou hodnotitelů byly zjištěny u všech vzorků mírně lasturovitý lom a po rozmíchání tvarohovitá konzistence. Výraznější rozdíly byly zjištěny u chuti, kde byla chuť 9 vzorků hodnocena jako hodně výrazná až nahořklá. Tato skutečnost byla zjištěna u všech typů kapa kaseinů, ale nejčastěji u varianty AE (Marková, 2004).

2.9.2 Nízkodohříváné sýry

Pro výrobu nízkodohříváných sýrů na poloprovozním zařízení sýrařského oddělení ve VÚM Tábor byl použit standardní technologický postup pro sýry typu gouda. Požadovaný objem odebíraného mléka pro použité polo-provozní zařízení byl 200 l a výsledky rozborů mléka pro výrobu nízkodohříváných sýrů jsou v tabulce 13 (Marková, 2004).

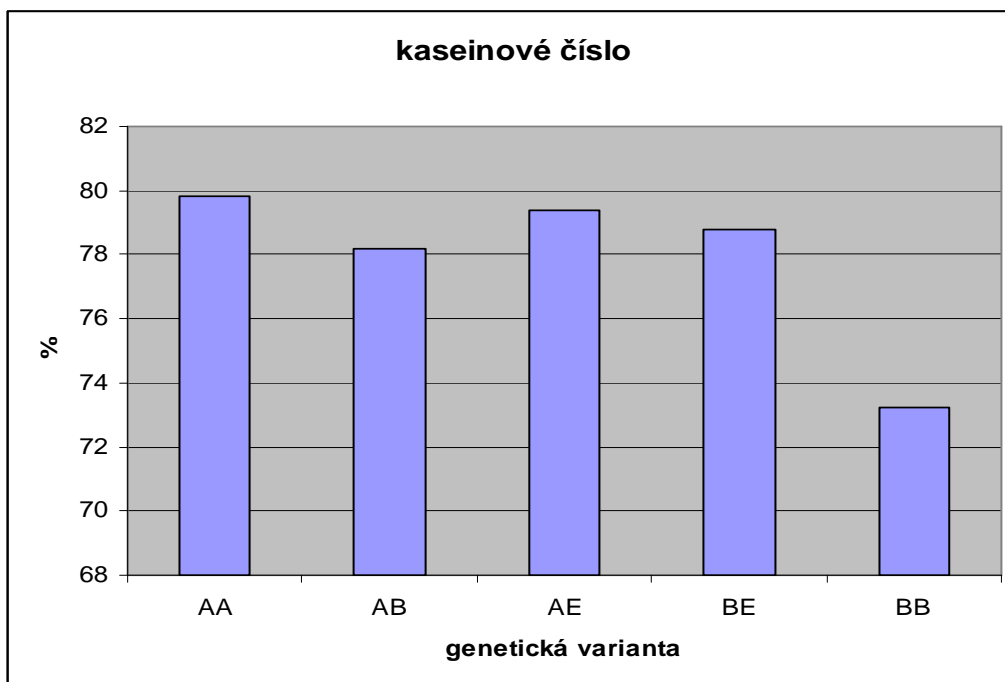
Tabulka 13: Výsledky rozborů mléka pro výrobu nízkodohříváných sýrů (Marková, 2004)

Analýza	jednotky	Kapa kasein				
		AA	AB	AE	BE	BB
Syrové mléko						
CPM	počet/100ml	9200	14000	14000	7400	26000
Tuk	g/100ml	3,24	3,57	3,57	4,16	3,09
Bílkoviny	%	3,07	3,31	3,17	3,21	3,19
Laktóza	%	4,94	4,87	4,83	4,83	4,77
SNF	%	8,63	8,80	8,69	8,72	8,59
TS	%	11,78	12,31	12,17	12,77	11,63
Kasein	%	2,44	2,59	2,51	2,54	2,48
Nebilk. Nlátky	%	0,26	0,23	0,22	0,19	0,22
Syrovát. Bílk.	%	0,37	0,49	0,44	0,48	0,49
Čisté bílk.	%	2,81	3,08	2,95	3,02	2,97
Močovina	mg/l	261	249	249	269	240
Sýřitelnost	s	725	651	692	598	570

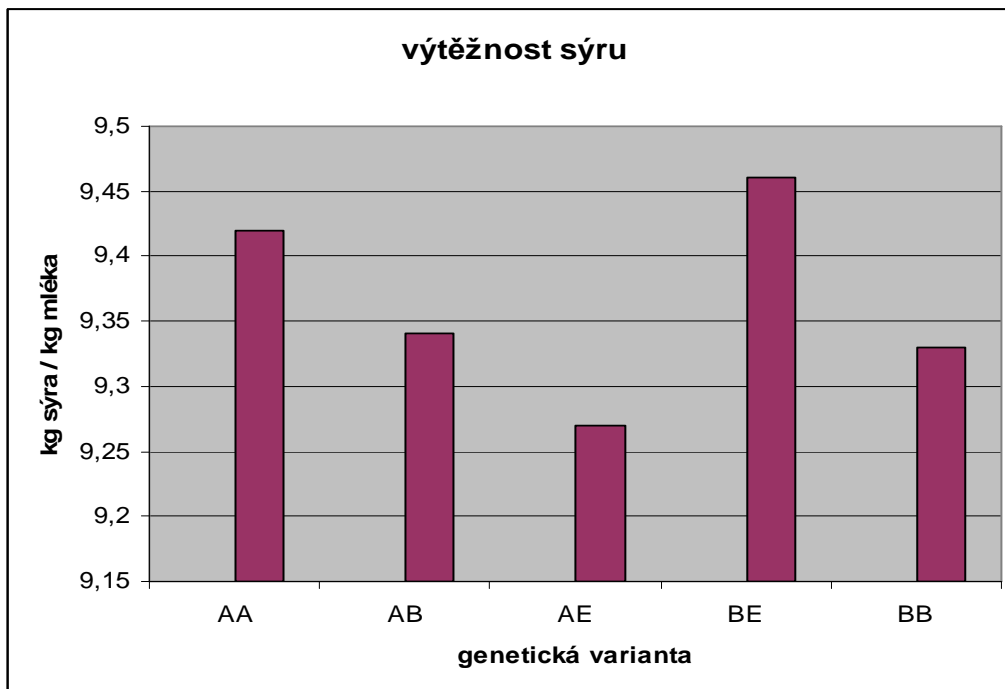
Nejnižších hodnot rozsahu zrání bylo dosaženo u kapa kaseinu AB. Hloubka zrání je podíl aminosloučenin a amoniaku v celkovém dusíku. Nejnižší hloubka zrání byla zjištěna u varianty kapa kaseinu AE. Po 90 dnech zrání byl zjištěn nejvyšší obsah esenciálních aminokyselin a histidinu u kapa kaseinu AB. U mléka varianty kapa kaseinu BE byla zjištěna po 90 dnech vysoká hodnota cysteinu, což by mohlo být příčinou případných chuťových vad.

Hodnota výtěžnosti byla zjištěna výpočtem dle vzorce Van Slyke a Publów. Vypočtené hodnoty (viz. graf č. 4) a hodnoty kaseinového čísla – graf 3. Nejlepší kaseinové číslo bylo zjištěno u varianty AA a nejvyšší výtěžnost u varianty BE. Zajímavé je porovnání u varianty AE, kde bylo vysoké kaseinové číslo a současně nejnižší výtěžnost. Naopak u varianty kapa kaseinu BB bylo zjištěno nejnižší kaseinové číslo, ale hodnota tomu neodpovídala. (Marková, 2004)

Graf 3: Kaseinové číslo – nízkodohřívané sýry (Marková, 2004)



Graf 4: Výtěžnost sýrů – nízkodohřívané sýry (Marková, 2004)



Všechny vzorky dosahovaly vyrovnaného hodnocení pružné a vláčné konzistence, typické čisté sýrové chuti a vůně a na řezu spojitého a světlého vzhledu s občasným výskytem menších oček. Jako nejchutnější byla hodnocena varianta BB (Marková, 2004).

2.10. Genetický vliv kaseinů na zdraví člověka při jeho konzumaci

2.10.1 Mléko a výskyt srdečních chorob

V roce 1995 byl požádán nezávislý vědecký pracovník Univerzity Cantenbury na Novém Zélandu o soustředění informací o složení proteinu kravského mléka v celosvětovém měřítku a vypracování matematického modelu o vztahu přítomnosti beta kaseinu A1 v mléce k počtu úmrtí na srdeční choroby. Výsledná korelace mezi mléčným proteinem A1 a úmrtím na srdeční choroby byla dle autorova názoru výraznější, než např. korelace mezi kouřením a srdečními chorobami.

I když se všeobecně uznává, že kouření způsobuje srdeční choroby, dr. McLachlan a další výzkumníci věří, že konzumace mléka s obsahem beta kaseinu A1 poškozuje zdraví lidí neméně intenzivním způsobem.

Zpracovaný model porovnává průměrnou denní spotřebu beta kaseinu A1 v gramech (vyjma sýrů) ve vztahu k počtu zemřelých na ischemickou srdeční chorobu v roce 1985 ze 100 000 mužů ve věku 39 – 69 let. Údaje vycházejí ze statistických podkladů FAO a jsou orientačního charakteru, poněvadž byly odečteny z grafu (Křivánek, 2002).

Tabulka č. 14: Počet zemřelých mužů ve věku 39 – 69 let ve vztahu se spotřebou beta kaseinu A1 (Křivánek, 2002)

Země	Spotřeba beta kaseinu A1 (bez sýrů) v g/den	Počet zemřelých mužů ve věku 39 – 69 let ze 100 ti. – 1985
Japonsko	0,8	45
Francie	1,0	95
Švýcarsko	1,2	130
Izrael	1,5	180
Rakousko	1,3	210
Německo	1,3	210
Kanada	1,7	230
USA	2,0	235
Island	2,3	245
Dánsko	2,4	250
Švédsko	2,45	240
Austrálie	2,45	260
V. Británie	2,7	335
Norsko	2,8	270
Nový Zéland	3,15	290
Irsko	3,3	340
Finsko	3,4	370

2.10.2 Vliv beta kaseinů na zdraví člověka

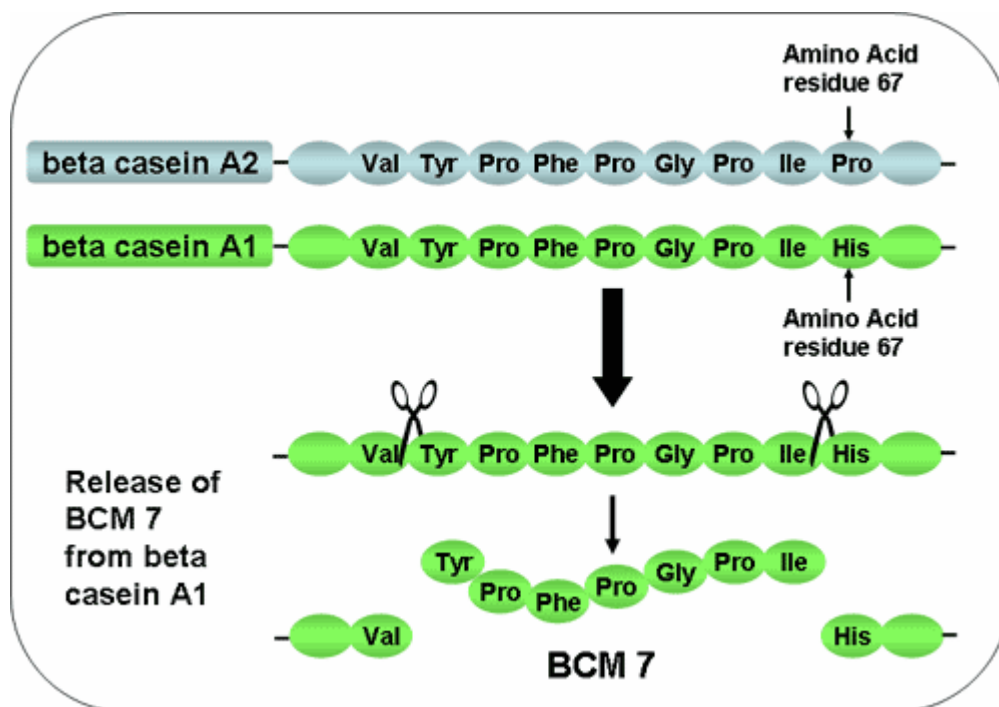
2.10.2.1 Výskyt nemoci IDDM

Výskyt diabetu 1. typu, neboli insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) na Islandu je přes podobné genetické pozadí o polovinu menší než v severských zemích, tj. Skandinávie (Norsko, Dánsko, Švédsko a Finsko). Tato odlišnost nemůže být vysvětlována rozdílnými zvyky v kojení, protože délka kojení je podobně dlouhá ve

všech zemích. Avšak studie z Evropy a USA ukazují vztah mezi krátkou dobou kojení a velkým výskytem IDDM. Spotřeba mléčných produktů v kojeneckém věku byla také zpětně spojena s touto nemocí, ačkoliv ne všechny studie našly tento vztah. Tato nesrovnalost naznačuje rozdíly v diabetogenicitě kravského mléka. Avšak hlubší zkoumání odhalilo, že kravské mléko je důležitým determinantem IDDM a v roce 1994 American Academy of Pediatrics našla důvod k tomu, aby důrazně doporučovala kojení. Také doporučují, aby rodiny s velkou historií výskytu IDDM nedávaly svým dětem v prvním roce života produkty obsahující neporušené bílkoviny z kravského mléka (Thorsdottir, 2000).

2.10.2.2 Možné příčiny výskytu IDDM

V poslední době se při pokusech na zvířatech zjistilo, že beta kaseinová frakce A1 kravského mléka je diabetogenní, zatímco beta kaseinová frakce A2 není. Toto jsou dominantní varianty beta kaseinu v mléce většiny plemen skotu. A tak je možné, že varianty beta kaseinových frakcí mohly přispět k zdánlivé neshodě mezi studii na diabetogenicitu kravského mléka. Již dříve se na pokusných zvířatech (NOD u myší) zjistilo, že beta kasein, který je jedním z primárních proteinů v kravském mléce, je diabetogenní, ale hydrolýza proteinů kravského mléka ukázala vysoký ochranný efekt proti diabetu. Zvýšená lymfocytická odpověď na beta kasein byla také objevena u pacientů s nedávným počátkem nemoci IDDM v porovnání s nediabetickými zdravými lidmi a pacienty s jinou autoimunní nemocí. Jiná studie ukazuje zvýšenou hladinu protilátek proti A1 beta kaseinu u diabetických pacientů než u zdravých kontrolních bez A varianty beta kaseinu. B beta kasein má podobné vlastnosti jako A1 beta kasein. Oba A1 i B beta kaseiny mají v primární sekvenci na 67. pozici histidin, ale A2 beta kasein má na této pozici prolin. Aminokyselinová sekvence A1 a B beta kaseinu způsobuje štěpení řetězce střevními trávicími enzymy tak, že vzniká beta-casomorphin-7 (BCM 7), který podporuje diabetogenicitu. Viz. obrázek č. 4 (Thorsdottir, 2000).



Obrázek č. 4: Schéma vzniku beta-casomorphin-7 (BCM 7) v trávicím traktu (Chabance, 2007)

2.10.2.3 Možné důvody nižšího výskytu IDDM na Islandu než ve Skandinávii a možný mechanismus vzniku diabetogenicity

Genetický výzkum na islandských a skandinávských plemenech skotu naznačuje, že geny kódující A1 a B beta kasein jsou méně frekventované u islandského skotu než u většiny plemen skotu ve Skandinávii. Islandský skot byl 1100 let izolován, zatímco plemena skotu žily uvnitř i mezi Skandinávskými zeměmi. Navíc mléčný skot byl také do Skandinávie importován z ostatních zemí. Nedávno byla objevena významná korelace mezi spotřebou A1 a B beta kaseinu a výskytu IDDM v přepočtu na obyvatele v 10 zemích včetně Islandu a čtyř skandinávských zemí. Spotřeba mléčných produktů v kojeneckém věku ve srovnání s IDDM na Islandu nebyl prozkoumán. Také skutečný obsah variant beta kaseinu v mléku ve Skandinávii nebyl dostatečně analyzován.

Kojení a spotřeba kravského mléka v kojeneckém věku byl podobný mezi IDDM pacienty a kontrolou, která je v souladu s předchozími studiemi. Avšak jiné

studie objevily mezi pacienty IDDM kratší dobu kojení či dřívější příjem kravského mléka, než mezi kontrolními pacienty, to zdůvodňuje vztah mezi spotřebou kravského mléka a IDDM. Zdá se, že tento vztah existuje v některých zemích a ne v jiných, ukazující, že kravské mléko může mít rozdíly způsobující diabetogenní faktory v jiných zemích.

Analýza kravského mléka ukázala významně méně frakce A1 a skupiny A1 a B beta kaseinu v islandském mléce než v mléku ze Skandinávie. To může vysvětlovat nižší výskyt IDDM na Islandu než ve Skandinávii. Mechanismus domnělé diabetogenicity A1 a B beta kaseinu není úplně znám. Peptid BCM, produkovaný při trávení A1 a B beta kaseinu, funguje jako opátový ligandový receptor a je absorbován skrz střevní stěnu. BCM se ukázal jako inhibitor funkce imunitních buněk u NOD myši a prediabetických lidí, ale ne u Weiss myši a zdravých lidí. Homologická sekvence mezi beta kaseinem a několika molekul beta buněk vytváří jakousi „spoušť“ imunitní odpovědi.

Ve studii se zjistilo, že nižší výskyt frakce A1 beta kaseinu a celku A1 a B beta kaseinů v konzumovaném kravském mléce z Islandu než ze Skandinávie jsou v souladu s výsledky genetických studií plemen skotu. Tento výsledek také podporuje nedávno publikované hodnoty Elliotem et al., kteří našli ještě širší rozdíly mezi hodnotami chemických analýz a výsledků genetických výzkumů v islandském a skandinávském mléce. V této studii byly vzorky mléka vzaty ze stejných oblastí v sedmi měsíčních intervalech a měly relativně konstantní beta kaseinové složení. Avšak to je pravděpodobně dané relativně dlouhými periodami, či dekádami programů šlechtění skotu, které mají za následek variace v beta kaseinových frakcích (Thorsdottir, 2000).

2.10.2.4 Vliv kojení a začátkem přijímání kravského mléka kojenci

Načasování, dávka a délka přijímání kravského mléka by mohlo být důležité pro rozvoj nemoci IDDM, a některé studie tvrdí, že konzumace mléka v kojeneckém věku může být důležitá. Možné vysvětlení významně dřívějšího začátku konzumace mléka by mohlo být tím, že střeva kojenců mohou absorbovat větší bílkovinné fragmenty z potravy než střeva dětí a dospělých. Kojenci dostávají hydrolyzovanou kojeneckou výživu potlačující buněčnou a humorální odpověď na kravské bílkoviny, ve srovnání s kontrolní skupinou. V současné době probíhá mezinárodní double-blind studie, ve které je kojencům, u kterých je vysoké riziko onemocnění IDDM, prvních 6 měsíců

života podávána hydrolyzovaná kojenecká výživa, aby se vyhnuli neporušeným bílkovinám v potravě. Vědci tvrdí, že pro rozvoj nemoci IDDM u geneticky náchylných lidí, je nutné trvalé vystavování se těmto bílkovinám, a výsledky ze studií na zvířatech ukazují, že jídlo může mít diabetogenní efekt i v pubertě. Avšak mělo by být na mysli, že většina IDDM pacientů je diagnostikována před dospělostí, a proto jak se zdá je nejvíce důležitá strava v dětském věku.

Dahl-Jorgensen a spolupracovníci objevili silnou korelaci mezi celkovou spotřebou kravského mléka v přepočtu na obyvatele a výskytu IDDM ve 12 zemích, včetně 4 skandinávských zemí, Dánsko, Norsko, Švédsko a Finsko. Podobný vztah byl objeven v 9 regionech v Itálii. To zřejmě odporuje islandské situaci, protože spotřeba kravského mléka v přepočtu na obyvatele na Islandu je jednou z nejvyšších na světě a naopak výskyt nemoci IDDM je nízký. Avšak nedávné pojednání od Elliotta et al. Objevila silnou korelaci spotřebou A1 a B beta kaseinů a výskytu IDDM v přepočtu na obyvatele v 10 zemích, včetně Islandu a 4 skandinávských zemí.

V tomto kontextu je důležité zhodnotit celkové vystavení vlivu mléka, nebo obzvláště beta kaseinu A1 a B, mezi kojenci a dětmi. Vysoká spotřeba kravského mléka je u nejmladší populace, zatímco spotřeba kojenecké výživy je nižší, než v jiných skandinávských zemích. Spotřeba kravského mléka v dětství je pak podobná na Islandu i ve 4 skandinávských zemích. Celková spotřeba mléka v mladém věku není tedy menší na Islandu než ve skandinávských zemích, ale celkové vystavení vlivu beta kaseinů A1 a B se zdá být nižší. To musí být ověřeno propočtem s přesnými chemickými analýzami beta kaseinových A1 a B vzorcích (Thorsdottir, 2000).

2.10.2.5 Vliv genetické náchylnosti a vliv environmentální k rozvoji IDDM

U geneticky predisponovaných lidí může dojít k rozvoji IDDM, ale u většiny těch, s takzvanými vysoce riskantní geny k tomuto nedojde. To, že národy, které jsou geneticky podobné, ale mají velmi rozdílný výskyt IDDM, podporuje hypotézu, že environmentální faktory přispívají k riziku onemocnění IDDM. Islandská populace má podobné genetické původy, jako skandinávské národy. Avšak studie ukázaly, že Finský národ má zvláštní genetickou náchylnost k onemocnění IDDM. Většina rozdílů v lidských leukocytárních antigenů alelické distribuce mezi islandskými a norskými diabetiky nemůže být nalezena, ale výskyt IDDM v Norsku je přibližně dvakrát větší než na Islandu.

Dnes je IDDM druhým nejčastějším chronickým onemocněním v dětském věku. V poslední době bylo poukazováno na to, že výskyt IDDM ve Finsku v roce 1996 byl 44,8 ze 100 000 dětí od 0 do 14 let. Výskyt je obzvláště zvýšený mezi dětmi ve věku 1 až 4 let. Jak uvádí studie, také zvýšený výskyt je i v ostatních zemích v porovnání s Islandem, tj. Dánsko, Norsko a Švédsko. Všechny tyto národy jsou příbuzné k Islandskému národu, který má mnohem menší a stabilnější výskyt IDDM. Fakt, že IDDM je jednou z nejrychleji rozvíjejících se chorob na světě upozorňuje na důležitost identifikování možných enviromentálních „spouštěčů“. Zda je jen jeden „spouštěč“, či zda se jedná o mnohonásobnou enviromentální poruchu vyústěnou v destrukci beta buňek, není známo. K zaměření se pouze na kojení a na časné vystavení se vlivu kravského mléku, je nanejvýš zjednodušené, ale i jiné faktory mohou být spojovány s IDDM, které jsou podobné na Islandu a ve skandinávských zemích, jako jsou výskyt infekcí mezi malými dětmi, spotřeba nitrátů a insekticidů, stejně jako spotřeba kávy a čaje. Může být zmíněno dokonce i více faktorů. Důkladná evidence naznačuje, že kravské mléko je důležité pro rozvoj nemoci IDDM, a že variabilita v kaseinovém složení mléka by z části mohlo vysvětlovat rozdílné výsledky ze studií ve vztahu mezi nemocí IDDM a složením kravského mléka (Thorsdottir, 2000).

3. Závěr

Mléko obsahuje v závislosti na mnoha faktorů asi 3,6 % bílkovin. Mezi tzv. čistou bílkovinu patří kasein a syrovátkové bílkoviny. Obsah kaseinu u kravského mléka je asi 80 % z čistých bílkovin. Kasein se dále dělí na α – kasein, β – kasein a κ - kasein. α – kasein pak ještě na α_{S1} -kasein a α_{S2} -kasein. Alela α_{S1} -CN C má lepší sýrařské vlastnosti. Alela α_{S1} -CN A bývá uváděna ve spojitosti s vodnatým tvarohem. Alely β – CN B a C mají vliv na lepší kvalitu sýřeniny než alela β – CN A. κ – CN má asi největší vliv na kvalitu mléka pro sýrařské potřeby. Nejdélší čas koagulace je u varianty κ – CN AA, poté AB a nejkratší je u varianty κ – CN BB. Jakost sýřeniny bývá největší u varianty κ – CN AA.

Co se týče vlivu genetického polymorfismu β – kaseinu na lidské zdraví, většina autorů propaguje variantu β – kaseinu A2. Důvod je ten, že v trávicím traktu rozkladem A1 β – kaseinu vzniká beta-casomorphin-7 (BCM 7), zatímco u A1 β – kaseinu tomu tak není. BCM 7 má negativní účinek na lidský organismus. A1 může mít tedy negativní vliv na rozvoj nemoci IDDM, a kardiovaskulárních nemocí. Touto problematikou se zabývá mnoho vědců na celém světě a konečné stanovisko o účinku variant β – kaseinů není dosud známé.

4. POUŽITÁ LITERATURA

1. Čítek, J., Mašková, J.: Polymorfismus mléčných proteinů skotu. *Živočišná výroba* 1997, 42, s.523-531.
2. Čítek, J., Řehout, V., Bláhová, B., Hradecká, E.: Vliv polymorfismu vybraných lokusů na mléčnou užitkovost českého strakatého skotu. *Collection of Scientific Papers. Faculty of Agriculture in České Budějovice. Series for Animal Science.* 21., 2004 (1):45-48.
3. Eigel, W.: Identification of proteose peptone component 5 as a plasmin-derived fragment of bovine β -casein. *J. Biochem.* 1981. 13. s. 1081.
4. Eigel, W., Hitler, J., Ernstrom, C., et al.: Nomenclature of Protein of Cow Milk: Fifth Revision. *Journal of Dairy Science.* 1984. 67. s. 1599-1631.
5. Erhardt, G.: A new α_{s1} -casein Allele in bovine milk and its occurrence in different breeds. *Animal Genetics.* 1993b. 24. s. 65.
6. Gajdůšek, S. (2003): *Laktologie.* MZLU v Brně, 2003.
7. Havlíček, Z. (1996): Polymorfismus mléčných proteinů ve vztahu k jejich produkci a kvalitě. *Disertační práce.* MZLU v Brně.
8. Chabance B, et al.: Casein peptide release and passage to the blood in humans during digestion of milk or yogurt. *Cit. 21.4.2007.* Dostupné z www.a2corporation.com/index.php/pi_pageid/47.
9. Jandurová, O., Štípková, M., Kottová, B.: Polymorfismus alel mléčných bílkovin u skotu a šlechtění na kvalitu mléčné bílkoviny. *Náš chov. Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha-Uhřetěves, 2002. číslo 8. s. 27-30.*
10. Křivánek, M.: Může kravské mléko ohrožovat zdraví?. *Mlékařské listy-zpravodaj.* 2002. číslo 69. s.18-20.
11. Kučerová, J., Němcová, E., Štípková, M., Vrtková, I., et al.: Genetický marker CSN3 a ukazatele mléčné užitkovosti. *Náš chov.* 2004. číslo 12. s.30-31.
12. Kučerová, J., et. al.: Vztah genotypů kandidátního genu CSN3 k parametrům mléčné užitkovosti u českého strakatého skotu. *Collection of Scientific Papers. Faculty of Agriculture in České Budějovice. Series for Animal Science.* 22., 2005 (2): 159-162.
13. Lien, S. et al.: Detection of multiple β -casein (CASB) alleles by amplification created restriction sites (ACRS). *Animal Genetics.* 1992. 23. s.333-338.

14. Marková, M., Snášelová, J., Buchwaldková, T.: Sledování vlivu genetické varianty κ -kaseinu na technologické vlastnosti sýrů. Mlékařské listy-zpravodaj. Výzkumný ústav mlékárenský v Praze ve spolupráci s Českomoravským svazem mlékárenským a s Českým národním komitétem IDF, 2004. číslo 88. s.23-25.
15. Marková, M., Snášelová, J., Buchwaldková, T., et. al.: Sledování vlivu genetické varianty α_{S1} -kaseinu kozího mléka na jeho složení a technologické vlastnosti. Mlékařské listy-zpravodaj. 2006. číslo 97. s.10-11.
16. Mercier, J., Grosclaude, F., Ribedau-Dumas, B.: Structure primarie de la caséine α_{S1} bovine. Eur. J. Biochem. 1971. 23. s. 41-51.
17. Miranda, G., Anglade, P., Mahé, M., Erhardt, G.: Biochemical characterization of the bovine genetic κ -casein C and E variants. Animal Genetics 1993. 24. s. 27-31.
18. Prinzenberg, E., Hiendleder, S., Ruottinen, O., Erhardt, G.: Genotyping of six bovine kappa-casein alleles including the two new alleles F and G. XXVth International Conference on Animal Genetics ISAG. 1996. 21-25 July. s. 39.
19. Schlieben, S., Erhardt, G., Senft, B.: Genotyping of bovine δ - casein ($\kappa - CN^A$, $\kappa - CN^B$, $\kappa - CN^C$, $\kappa - CN^E$) following DNA sequence amplification and direkt sequencing of $\kappa - CN^E$ PCR product. Animal Genetics. 1991. 22. s. 333-342.
20. Soldát, J., Kott, T.: Frekvence alel u genů pro složení mléka v populaci čestr. Náš chov. VUŽV Praha, 2006. číslo 6. s.32-33.
21. Stewart, A. et al.: Komplete nukleotide sequence of bovine α_{S2} – and β – kasein cdnas: Comparisons with related sequences in other species. Molecular Biology and Evolucion 4. 1987. s. 231-241.
22. Stringleman, H.: Revoluce? Nové A2 mléko předchází výsledky. Mlékařské listy-zpravodaj. Food New Zealand. 2006. číslo 72. s 21-23.
23. Sztankóová, Z.: Biotechnologie-kozí mléko. Zpravodaj. VUŽV Praha, 2006. číslo 4. Dostupné z www.schok.cz/files/pdf/mag4_2006.pdf.
24. Thorsdottir, I et al.: Different beta-casein Fractions in Icelandic Versus Scandinavian Cow's Milk... cit.4.1.2004. dostupné z WWW.findarticles.com/cf_dls/m0950/4_106/66665096/print.jhtml.
25. Žitný, J., et al.: Rozdiely v mliekovej úžitkovosti rôzneho α_{S1} – kazeínového genotypu dojníc slovenského strakatého plemena. Živočišná výroba, 1997, 42, s. 481-486.