



protectants during freezing or freeze drying upon properties of washed mechanically recovered broiler meat. *I. J. Food Sci. and Tech.* 31,45-54.

Lanier T. C., G. A. Macdonald (1991): Carbohydrates as cryoprotectants for meats and surimi. *Food Tech.* 45,150-159.

Murphy, R. Y., B. P.Marks, J. A.Marcy(1998): Apparent specific heat of chicken breast patties and their constituent proteins by differential scanning calorimetry. *Journal of Food Science*, 63: 88-91.

Park J. W., T.C. Lanier, D.H. Pilkington (1993): Cryostabilization of functional properties of pre-rigor and post-rigor beef by dextrose polymer and/or phosphates. *J. Food Sci.* 58,467-472.

Perez-Mateos, M., J. L. Hurtado, P. Montero, F. Fernandez-Martin (2001): Interactions of kappa-carrageenan plus other hydrocolloids in fish myosystem gels. *J. Food Sci.* 66, 838-843

Stangierski, J., J. Kijowski (2003): Effect of selected commercial substances with cryoprotective activity on the quality of mechanically recovered, washed and frozen stored poultry meat. *Nahrung / Food*, 47, 49-53.

Stangierski, J., J. Kijowski (2008): Effect of selected substances on the properties of frozen myofibril preparation obtained

from mechanically recovered poultry meat. *Eur. Food Res. Tech.* 226,1415-1420.

Sych, J., C., Lacroix, L. T. Adambounou, F. Castaigne (1990): Cryoprotective effects of lactitol, palatinose and polydextrose on cod surimi proteins during frozen storage. *J. Food Sci.* 55, 356-360.

Sych, J., C. Lacroix, M. Carrier (1991): Determination of Optimal Level of Lactitol for Surimi. *J. Food Sci.* 56, 285-290.

Thawornchinsombut, S., J. W. Park (2006): Frozen Stability of Fish Protein Isolate Under Various Storage Conditions. *J. Food Sci.* 71,227-232.

Tornaniak, A., I. Tyszkiewicz, J. Komosa (1998): Cryoprotectants for frozen red meats. *Meat Sci.* 50,365-371.

Uijttenboogaart, T. G., T. L. Trziszka, F. J. G. Schreurs (1993): Cryoprotectant Effects during Short Time Frozen Storage of Chicken Myofibrillar Protein Isolates. *J. Food Sci.* 58, 274-277.

Prispjelo: 20. svibnja 2009.

Prihvaćeno: 11. lipnja 2009. ■

MOLEKULARNI PRISTUP U ISTRAŽIVANJU KVALITETE SVINJSKOG MESA

Jerković¹ I., I. Đurkin¹, V. Margeta¹, G. Kralik¹, G. Kušec¹

SAŽETAK

Istraživanje kvalitete svinjskog mesa kompleksan je problem i stalna preokupacija istraživača. Zbog svoje relativno niske nasljednosti kao i činjenice da su kvantitativna, svojstva koja određuju kvalitetu mesa izuzetno je teško unaprijediti uobičajenim seleksijskim metodama. Upravo molekularna genetika svojim alatima nudi mogućnosti prevladavanja spomenutih ograničenja. Rad daje pregled dosadašnjih postignuća u istraživanju kvalitete svinjskog mesa primjenom tri temeljna pristupa molekularne genetike: utvrđivanjem major gena, istraživanjem lokusa kvantitativnih svojstava (QTL) i istraživanjem potencijalnih kandidatnih gena. Danas postoji niz dostupnih genomske baze koji omogućavaju pregledavanje markera, QTL-ova

ili polimorfizama jednog nukleotida (SNP) u istraživanju genoma nekog organizma. Kako ovo predstavlja važan korak u istraživanju kvalitete svinjskog mesa molekularnim pristupom, rad daje pregled svih dostupnih internet-skih baza posvećenih istraživanju svinjskog genoma.

Ključne riječi: kvaliteta svinjskog mesa, major gen, QTL, kandidatni gen, genomske baze

UVOD

Kvaliteta mesa je zbir svih senzorskih, nutritivnih, higijensko-toksikoloških i tehnoloških svojstava mesa (Hoffmann, 1994.). Poznato je da na sva ova međusobno interaktivna svojstva utječe veliki broj čimbenika poput svojstava mišića, proizvodnih, okolišnih i genetskih čim-

¹ Ines Jerković, dipl. ing., ines_2@net.hr; Ivona Đurkin, dipl. ing., asistent; mr.sc. Vladimir Margeta, asistent; dr.sc.dr.h.c. Gordana Kralik, red. prof.; dr.sc. Goran Kušec, izv. prof., Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Zavod za specijalnu zootehniku, Trg Svetog Trojstva 3, 31 000 Osijek



PREGLEDNI RAD

Molekularni pristup u istraživanju kvalitete svinjskog mesa

ZNANSTVENO STRUČNI DIO

benika. Zbog relativno niske nasljednosti svojstva koja određuju kvalitetu mesa izuzetno je teško unaprijediti tradicionalnim selekcijskim metodama, a njihovo je mjeđenje složeno, skupo i moguće izvesti jedino *post mortem*. Osim toga, nedostatak znanja o točnom broju gena koje određuju kvalitativne i kvantitativne karakteristike mesa te o njihovoj međusobnoj interakciji limitirajući su čimbenik potpunog iskorишtenja mogućnosti koje nam pruža selekcijski plan (Sellier, 1998). Zbog toga upravo molekularna genetika svojim alatima koja su u mogućnosti analizirati genetsku varijabilnost na razini DNK molekule može ponuditi rješenja prevladavanja ovih ograničenja.

Cilj ovoga rada je dati pregled dosadašnjih saznanja u istraživanju kvalitete svinjskog mesa primjenom molekularnih metoda.

Molekularne metode koje se koriste u istraživanju kvali-

tete svinjskog mesa zasnivaju se na tri osnovna pristupa: utvrđivanje major gena, istraživanje kandidatnih gena i primjena molekularnih markera.

MAJOR GENI

Danas su poznata četiri major gena koja utječu na kvalitetu mesa svinja: RYR1 (CRC1 ili MHS gen), PRKAG3 (RN gen), MI i MC gen.

RYR1 (CRC1; MHS gen)

Već ranih 60-ih godina prošlog stoljeća postalo je jasno da u velikom broju slučajeva upravo genetska komponenta utječe na pojavu BMV (bjelodog, mekanog i vodnjikavog) mesa. U to je vrijeme zabilježeno da se meso ovih nepoželjnih svojstava pojavljuje samo kod određenih pasmina svinja (Pietrain, Poland China) i određenih linija unutar iste pasmine (primjerice u Landrasi), dok u ostalih pasmi-

▼ Tablica 1. Utjecaj RYR1 genotipa na tehnološka i senzorska svojstva kvalitete mesa svinja (Otto i sur., 2007.)
▼ Table 1. Influence of RYR1 genotype on technological and sensory traits of pig meat (Otto et al., 2007)

Svojstvo/ Trait	Genotip/ Genotype		Značajnost/ Level of significance (P)
	Nn	NN	
pH ₄₅ MLD	6,09 (0,013)	6,38 (0,014)	<0,001
pH ₂₄ MLD	5,50 (0,005)	5,51 (0,005)	ns
pH ₂₄ but	5,61 (0,009)	5,61 (0,010)	ns
^a T ₄₅ (°C)	38,88 (0,065)	38,62 (0,066)	<0,001
^b EP ₄₅ (mS/cm)	3,95 (0,067)	3,78 (0,070)	<0,05
^c EP ₂₄ (mS/cm)	6,33 (0,122)	4,19 (0,127)	<0,001
Minolta L*	51,64 (0,189)	50,84 (0,196)	<0,001
Minolta a*	6,48 (0,068)	6,48 (0,071)	n.s.
Minolta b*	4,14 (0,063)	3,95 (0,065)	<0,001
^d Opto-Star vrijednost ^d Opto-Star value	67,77 (0,388)	65,89 (0,375)	<0,001
^e ImF (%)	1,19 (0,024)	1,26 (0,025)	<0,01
^f BM ₂₄	2,33 (0,066)	1,26 (0,069)	<0,001
^g BM ₄₈	3,76 (0,089)	2,44 (0,092)	<0,001
^h EZ-DL ₄₈	5,82 (0,130)	3,66 (0,134)	<0,001

^a temperatura mjerena 45 min. post mortem, belektrična provodljivost mjerena 45 min. nakon klanja; c električna provodljivost mjerena 24h nakon klanja; d stupanj bjelodoće mjerena uređajem Opto-star; eintramuskularna mast, f otpuštanje mesnog soka mjereno „metodom vrećice“ 24h nakon klanja; gotpuštanje mesnog soka mjereno „metodom vrećice“ 48h nakon klanja; hotpuštanje mesnog soka mjereno metodom „EZ drip“.

^a temperature measured 45 min. post mortem, belectric conductivity measured 45 min. post mortem; c eelectric conductivity measured 24h post mortem; dpaleness of meat measured with Opto-star device; eintramuscular fat, f drip loss measured by “bag method” 24h post mortem; gdrip loss measured by “bag method” 48h post mortem; hdrop loss measured by „EZ drip“ method.

Molekularni pristup u istraživanju kvalitete svinjskog mesa

▼ Tablica 2. Usporedba različitih RN genotipova u svojstvima kvalitete *m. longissimus dorsi* i trupa (Josell i sur., 2003)▼ Table 2. Comparison of different RN genotypes in *m. longissimus dorsi* and carcass quality traits (Josell et al., 2003)

Svojstvo / Trait	RN/RN ⁻	RN/RN ⁺	RN ⁺ /RN ⁻	rn ⁺ /rn ⁺	rn ⁺ /rn ⁻	Std. Greška Mean error	p-vrijednost p-value
Masa trupa, Carcass weight, kg	82,4	82,5	82,8	82,0	82,5	0,3	0,585
Udio mišićnog tkiva, Lean meat content %	59,4	58,4	58,6	58,0	57,9	6,7	0,373
pH ₄₅	6,49	6,44	6,47	6,51	6,55	0,07	0,625
pH _{3h}	6,15 ^b	5,90 ^a	6,12 ^b	6,18 ^b	6,15 ^b	0,07	0,032
pH _{24h}	5,46 ^{ab}	5,41 ^a	5,44 ^{ac}	5,50 ^{bc}	5,52 ^b	0,03	0,014
pH _{48h}	5,35 ^a	5,35 ^a	5,35 ^a	5,38 ^{ab}	5,45 ^b	0,02	0,001
Glikogen, Glycogen ($\mu\text{mol/g}$ s. t.)	297,0 ^a	310,8 ^a	243,6 ^c	80,0 ^b	68,4 ^b	25	0,001
Protein (%)	21,0 ^a	21,6 ^a	21,4 ^a	22,9 ^b	22,7 ^b	0,3	0,001
Voda, Water (%)	76,4 ^a	76,0 ^a	74,4 ^a	75,3 ^b	75,3 ^b	0,2	0,001
ImF (%)	0,83	0,96	0,86	0,98	0,98	0,13	0,842
Tekstura, Tenderness (N/cm ²)	65,3 ^{ab}	61,1 ^a	67,2 ^{ab}	77,6 ^b	75,8 ^b	7,2	0,134
Kalo kuhanja, Cooking loss (%)	30,7 ^a	30,2 ^a	30,6 ^a	26,2 ^b	26,5 ^b	0,6	0,001

^{a,b,c}p<0,05

na i linija ovaj poremećaj gotovo i nije zabilježen. Judge (1972) je utvrdio da je pojava BMV mesa usko vezana s malignom hipertermijom svinja, dok je Christian (1972) prvi pretpostavio da se stresna preosjetljivost nasljeđuje monogenetski, autosomno i recessivno. Prijelomni korak u istraživanju pojave BMV mesa bilo je saznanje da se sindrom maligne hipertermije može izazvati kratkotrajnim izlaganjem plinu halotanu, pri čemu se životinje podložne malignoj hipertermiji oporavljaju nedugo nakon prestanka djelovanja ovog anestetika (Christian, 1974). Istraživanja temeljena na reakciji pri ekspoziciji halotanom dokazala su da se sindrom stresne preosjetljivosti nasljeđuje recessivno (Ollivier i sur., 1975). Lokus odgovoran za preosjetljivost na halotan nazvan je HAL (Andresen i Jensen, 1977) te je utvrđeno da ima dva alela: N (normalan, dominantan) i n (osjetljivost na halotan, recessivan) (Minkema i sur., 1977).

Istraživanja koja su se temeljila na homologiji u segmentima ljudskog kromosoma 19 (regija q13.1-q13.2) i svinjskog kromosoma 6 (regija p1.1-q2.1) pokazala su da se maligna hipertermija u čovjeka javlja zbog mutacije

na rianodin receptoru (RYR). Fujii i sur. (1991) su utvrdili da točkasta mutacija (C u T) nuklotida 1843 istog receptora je u korelaciji, a vjerojatno i predstavlja uzrok maligne hipertermije u šest različitih pasmina svinja. Ovo je otkriće rezultiralo razvojem DNA metoda za utvrđivanje nositelja gena maligne hipertermije. Houde i sur. (1993.) utvrdili su da su C/C, C/T i T/T parovi alela povezani sa NN, Nn i nn genotipovima. Smatra se da heterozigoti (Nn), koji su nositelji RYR1 gena generalno imaju nižu kvalitetu mesa nego dominantni homozigoti (Tablica 1).

PRKAG3 (RN gen)

Hipotezu za postojanje ovog major gena dao je Naveau (1986), koji je na dvama francuskim hibridima svinja (Penshire i Laconie) utvrdio postojanje gena koji nepovoljno utječe na kvalitetu mesa, a pri tom se nije radilo o tada već dobro poznatom RYR1 genu. U Naveauveom istraživanju je kvaliteta mesa svinja bila ispitivana određivanjem „kala sušenja“ (franc.=Rendement Napole), koji je indikator tehnoškog prinosa sušene-kuhane šunke (težina kuhane šunke/težina sirove šunke bez kostiju). Ustanovljena su



PREGLEDNI RAD

Molekularni pristup u istraživanju kvalitete svinjskog mesa

▼ **Tablica 3.** Aritmetičke sredine i varijance pojedinih svojstava kvalitete mesa za različite statuse MC gena (Janss i sur., 1997.)

▼ **Table 3.** Means and variances of different meat quality traits regarding the MC gene status (Janss et al., 1997)

Svojstvo Trait	Terminalni nerast dominantni MC alel Terminal boar dominant MC alel	N	Terminalni nerast heterozigoti Terminal boar heterozygote	N	Terminalni nerast recesivni MC alel Terminal boar recessive MC alel	N
Kalo kuhanja, Cooking loss (%)	322	26,5±2,87	205	26,4±3,12	318	26,2±4,15
Otkapavanje, Drip loss (%)	0	-	97	2,04±0,943	747	2,78±1,58
IMF (%)	227	1,65±0,654	260	1,75±0,704	344	2,02±1,05
Tekstura, Tenderness (N)	62	34,8±6,89	408	36,5±8,51	375	43,7±11,4
pH ₄₅	162	5,60±0,161	107	5,65±0,240	576	5,68±0,289
pH ₂₄	47	5,71±0,157	149	5,77±0,240	650	5,84±0,322

dva alela: dominantni alel za kojeg se smatralo da smanjuje kalo sušenja i koji je nazvan RN⁺ i recesivni alel, koji je nazvan rn⁺. Poremećaj u kvaliteti mesa do kojeg dolazi ukoliko je životinja nositelj dominantnog alela Naevau je nazvao „kiselo meso“ (eng.=acid meat). Ovu hipotezu su potvrdili Le Roy i sur. (1990a, 1994a, 1996b) koji su prvo upotrijebili segregacijsku analizu na više neovisnih skupova podataka, a potom i izravnu usporedbu životinja sa dokazanim RN genotipom. Le Roy i sur. (2000) su utvrdili da meso nositelja nepoželjnog RN⁺ alela odlikuje visok sadržaj glikogena u mišićima, niske vrijednosti završnog pH, smanjenu sposobnost zadržavanja mesnog soka (WHC), kao i više CIE L* vrijednosti. Osim toga, meso nositelja RN⁺ alela ima i manji sadržaj proteina (Enfält i sur., 1997a), ali i niže vrijednosti otpornosti na presijecanje (van Laack i sur., 2001) te je njihovo meso ocijenjeno senzorskim panelima kao nježnije (Jonsäll i sur., 2000; Miller i sur., 2000).

Milan i sur. (2000.) pokazali su da je RN⁺ mutacija zapravo supstitucija (R200Q) u PRKAG3 genu na svinjskom kromosomu 15, koji kodira izoformu karakterističnu za mišić u podjedinice adenosin-monofosfat-aktivirane protein kinaze (AMPK). AMPK ima ključnu ulogu u regulaciji energetskog metabolizma eukariotskih stanica, a aktivira se pretvorbom AMP (adenozin-monofosfata) u ATP (adenozin-trifosfat). Aktivirana AMPK inhibira sintezu glikogena i stimulira njegovu degradaciju. Smatra se da upravo supstitucija R200Q inhibira degradaciju glikogena. Važno

je naglasiti da je RN⁺ mutacija uočena jedino u populaciji svinja pasmine Hampshire, odnosno u hibrida u čijem je stvaranju sudjelovala i pasmina Hampshire. Milan i sur. (2000.) su osim RN⁺ i rn⁺ lokusa utvrdili postojanje i trećeg lokusa nazvanog V199I (rn^{*}), koji je osim u populaciji Hampshire bio prisutan i u populaciji Velikog Yorkshira te kod nerastova divlje svinje. Ciobanu i sur. (2001) pronašli su postojanje ovog alela i u populaciji Landrasa, Berkshira, Duroca i sintetičke linije Duroca. Za ovaj se alel smatra da ima povoljan utjecaj na kvalitetu mesa jer meso životinja nositelja rn^{*} ima nizak glikolitički potencijal i visok završni pH (Ciobanu i sur., 2001, Fields i sur., 2002), koji povoljno utječe na sposobnost zadržavanja mesnog soka i kalo kuhanja (Fields i sur., 2002).

MI gen (MEISHANSKI GEN ZA INTRAMUSKULARNU MAST) I MC gen (MEISHANSKI GEN KALA KUHANJA)

Miješajući modele nasleđivanja, odnosno pojedinačni gen i poligene 350 svinja F2 križanaca između kineske Meishan svinje s nerastovske strane i danskih linija iste pasmine sa strane krmače, Janss i sur. (1997) uočili su major gen za količinu intramuskularne masti koji je nazvan MI. Dominantni homozigoti (MI⁺ alel) imali su oko 3,9% intramuskularne masti, dok su heterozigoti i recesivni homozigoti imali oko 1,8% intramuskularne masti. Smatra se da MI⁺ alel dolazi upravo od kineske Meishan svinje. Navedeni su autori u svom istraživanju uočili postojanje još jednog major gena koji utječe na završni pH mesa i

Molekularni pristup u istraživanju kvalitete svinjskog mesa

▼ **Tablica 4.** Primjeri kandidatnih gena za čije polimorfizme se smatra ili je utvrđeno da utječu na kvalitetu svinjskog mesa

▼ **Table 4.** Examples of candidate genes which polymorphisms are believed/determined to influence on meat quality traits

Naziv gena Gene	Lokacija Location	Fiziološka funkcija Physiological function	Utjecaj na svojstva kvalitete mesa Influence on meat quality traits	Izvor Source
H-FABP	6	Dio porodice proteina koji vežu masne kiseline Part of fatty acid binding protein family	Sadržaj intramuskularne masti	Gerbens i sur., 1997
CAST	2q2.1-2.4	Endogeni inhibitor kalpaina Endogenous inhibitor of calpains	Brzina omešavanja mesa <i>post mortem</i> Rast skeletnih mišića tijekom postnatalnog perioda Rate of <i>post mortem</i> meat tenderisation Growth of skeletal muscles during postnatal period	Ernst i sur., 1998 Goll i sur., 1998
HSA, PPOX	1q22	Sudjeluje u biosintetskim putevima hema Participates in biosynthetic hem pathways	Boja Colour	Ovilo i sur., 2002
IGF2	2	Posreduje u putovima hormona rasta Intermediates in growth hormone pathways	Povećava prinos mesa za oko 2,7% u Pietraina Increases meat yield in Pietrain breed for	Nezer i sur., 2002
SNX13	9q14	Unutarstanični i vezikularni promet Intracellular and vesicular circulation	Nije utvrđeno Not determined	Carlton i Cullen, 2005
CAPN1	2	Kodira veliku podjedinicu kalpaina, glavnih čimbenika cijepanja ključnih peptidnih veza Codes for calpain large subunit, major determinant of key peptide cleavage	Nježnost mesa i postotak mišićnog tkiva u polovici Meat tenderness and lean meat content in the carcass	Yuang i sur., 2006.
KALRN	13q41	Mišićna hipoksija i putovi vezanja kalcijevih iona Muscle hypoxia and binding pathways of calcium ion	Nije utvrđeno Not determined	Wardle i sur., 2007 Smolensky i sur., 2007
MLC2V	14q15	Mišićna hipoksija i putovi vezanja kalcijevih iona Muscle hypoxia and binding pathways of calcium ions	Nije utvrđeno Not determined	Wardle i sur., 2007 Smolensky i sur., 2007
MYH1	12q15	Oksidacijski metabolizam mišića Oxidation muscle metabolism	Nije utvrđeno Not determined	Lefaucher i sur., 2004
MLC2V	14q15	Putovi vezanja kalcijevih iona Binding pathways of calcium ions	Nije utvrđeno Not determined	Smolensky i sur., 2007
MYOD1	2	Miogenetski regulatorni faktor; povezan sa razvojem mišićnog tkiva Myogenetic regulatory factor; related to development of muscle tissue	Sadržaj intramuskularne masti, pH u <i>m. longissimus dorsi</i> Intramuscular fat content, pH in <i>m. longissimus dorsi</i>	Liu i sur., 2008
MYF5	5	U kombinaciji sa MYOD1 određuje porijeklo mišića In combination with MYOD1 determines origin of muscle tissue	Nema Not determined	Liu i sur., 2008
MGST3	4q13-16	Sudjeluje u metabolizmu glutathiona Participates in metabolism of glutathione	Stupanj crvenosti Paleness (Minolta a*)	Slawinska i sur., 2009



PREGLEDNI RAD

Molekularni pristup u istraživanju kvalitete svinjskog mesa

ZNANSTVENO STRUČNI DIO

kalo kuhanja te su ga nazvali MC (Meishan cooking loss) gen. Upravo je recessivni alel ovog gena odgovoran za smanjenje gubitka mesnog soka i povećanje završnog pH u mesu (tablica 3).

LOKUSI KVANTITATIVNIH SVOJSTAVA I KANDIDATNI GENI

Unatoč tome što se određena kvantitativna svojstva nasleđuju na jednostavan način jer ih kontrolira jedan ili dva gena uz slab utjecaj okoline, većina se svojstava nasleđuje velikim brojem gena s malim pojedinačnim učinkom (poligeni). Tada su razlike u određenom kvantitativnom svojstvu između jedinki neke populacije uzrokovane razlikama u alelima poligena ili lokusima kvantitativnih svojstava (od eng.=Quantitative Trait Loci). Tri se osnovne strategije primjenjuju pri genetskoj analizi QTL-ova: analiza vezanih svojstava, analiza kandidatnih gena i skeniranje genoma, koji zapravo predstavlja modificirani oblik analize vezanih svojstava (Beuzen i sur., 2000).

Kandidatni su geni zapravo prethodno identificirani geni s poznatom biokemijskom funkcijom koji mogu utjecati na neko svojstvo. Ukoliko neki gen jedne vrste životinja pokazuje visoki stupanj homologije i određuje vrlo sličan fenotip, tada se smatra da bi takav gen mogao biti kandidatni gen za određeno svojstvo kod neke druge vrste životinja. Upravo se ovakav pristup analize QTL-ova koristi pri identifikaciji markera za kvalitetu svinjskog mesa. Tablica 4 prikazuje neke od kandidatnih gena koji utječu ili bi mogli utjecati na svojstva kvalitete svinjskog mesa.

GENOMSKE BAZE

Znanstvenicima uključenim bilo u mapiranje genoma, bilo u istraživanje kandidatnih gena ili lokusa kvantitativnih svojstava i njihovog utjecaja na ekonomski važna svojstva u farmskih životinja, potreban je brz i efikasan pristup najnovijim informacijama vezanim za ovu problematiku. Ovo im omogućuju brojne bioinformatičke baze dostupne na internetu (tablica 5). Zbog svoje sveobuhvatnosti i jednostavnog pretraživanja ArkDB i PigQTL baza se najčešće koriste za istraživanje genoma svinje. ArkDB je genomska baza koja integrira sve genomske podatke vezane za određeni organizam, a to su: podatci o lokusu/markeru, referencama/radovima, autorima, eksperimentima, eksperimentalnim tehnikama, informacijama o PCR početnicama, uvjetima PCR, enzimima i slično. Baza se temelji na četiri ključna tipa podataka: reference, lokusi, eksperimenti i mape. PigQTLdb je baza dostupnih lokusa kvantitativnih svojstava dizajnirana 2004. kako bi se stvorio cjeloviti pregled dostupnih QTL-ova za ekonomski važna svojstva u svinja. Svi QTL-ovi koji se nalaze u ovoj bazi su ili objavljeni u časopisima ili predstavljaju izvje-

štaje privatnih laboratorija ili se radi o podacima koji su u procesu objavljivanja. Na ovaj je način do 2009. u bazu uvedeno više od 1831 QTL za 316 različitih svojstava u svinja (www.animalgenome.org/QTLdb/). U bazi se nalaze podaci za više od 50 parametara koji uključuju: lokaciju QTL-a (kromosom, lokacijsku prenosnicu), rezultate statističke obrade, učinak QTL-a (dominantni, aditivni), kandidatne gene i slično. Osim toga, baza je strukturirana tako da nudi poveznice s vanjskim izvorima podataka.

ZAKLJUČAK

Informacije na razini DNA molekule mogu pomoći svinjogojskoj industriji u izlučivanju nepoželjnih gena iz pojedinih populacija svinja, a time i posljedice utjecaja takvog gena na kvalitetu mesa svinja. Osim toga, ove informacije mogu pomoći u selekciji kvantitativnih svojstava, uključujući i ona na koje se može utjecati tradicionalnim oblicima selekcije.

Danas su za svojstva kvalitete mesa svinja poznata četiri major gena i oko 1425 QTL-ova. Svinjogojska industrija već koristi u selekciji mnoge od ovih gena i markera, a identifikacija gena za rast i razvoj mišićnog tkiva biti će od velikog značaja ne samo pri istraživanju kvalitete mesa, već i u primjeni takvih saznanja u industriji.

Funkcionalna genomika intenzivno istražuje globalne promjene u ekspresiji gena u mišićima što će omogućiti njihovo povezivanje sa fenotipskim karakteristikama te otkrivanje novih kandidatnih gena za poboljšanje kvalitete mesa svinja. Kako se radi o izuzetno složenom području koje se vrlo intenzivno razvija, upravo bioinformatičke baze daju dobar izvor informacija potreban za istraživanja u ovoj disciplini.

SUMMARY

MOLECULAR APPROACH IN RESEARCH OF PORK MEAT QUALITY

A research of pork meat quality is a complex problem and a constant preoccupation of researchers. It is very hard to be improved by the usual selective methods because of its relatively low hereditary quality as well as the fact that the characteristics are quantitative. Exactly molecular genetics offers the possibility of prevailing over the mentioned limitations by its tools. The paper presents the review of the achievements made so far in research of pork meat quality by applying the three basic approaches of molecular genetics: determining major genes, researching the locus of quantitative traits (QTL) and researching potential candidate genes. Today there are series of available genomic bases which enable the checking of markers, QTLs or polymorphisms of one nucleotide (SNP) in

▼ **Tablica 5.** Prikaz dostupnih internetskih stranica posvećenih proučavanju genoma svinje▼ **Table 5.** Available internet sites dedicated to investigation of pig genome

Naziv baze Database	Sadržaj stranice Website content	URL
NCBI pig genome resources	Donosi informacije vezane za svinjski genom iz NCBI Information on pig genome from NCBI	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/guide/pig/
PigQTL database PigQTL database	Baza svih dostupnih QTL-ova za ekonomski važna svojstva u svinja Database of all available QTLs for economically important pig traits	http://www.animalgenome.org/QTLDb/
Projekt fizičkog mapiranja svinjskog genoma Physical mapping pig genome project	Fizička mapa svinjskog genoma proizvedena suradnjom četiri laboratorija Physical map of pig genome arised fro	http://www.sanger.ac.uk/Projects/S_scrofa/
BLAST pig genome	Usporedba nukleotidne ili proteinske sekvene sa bazom sekvenci te izračun statističke značajnosti ukoliko se dvije sekvene međusobno podudaraju Comparison of nucleotide or protein sequence with sequence database and calculation of statistical significance in case of matching sequences	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genome/seq/BlastGen/BlastGen.cgi?taxid=9823
ArkDB-pig mapping database	Genomska baza za svinje Pig genome database	http://www.thearkdb.org/arkdb/do/getChromosomeDetails?accession=ARKSP00000001
ARK-genomics	Centar za komparativnu i funkcionalnu genomiku u farmskih životinja Center for comparative and functional genomics of farm animals	http://www.ark-genomics.org/index.php
The Pig Single Nucleotide Polymorphism (SNP) database	Baza polimorfizama jednog nukleotida (SNP) SNP database	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_batchSearch.cgi?org=9823&type=SNP
USDA MARC database	Mapa vezanih gena, identificiranih klonova, pretraživanje postojećih markera Linkage map, identified clones, browsing of known markers	http://www.marc.usda.gov/genome/swine/swine.html
PigGIS	Daje točnu anotaciju gena u svim sekvenciranim regijama svinjskog genoma Gene annotation in all sequenced regions of pig genome	http://pig.genomics.org.cn/
PEDE	Baza kolekcija EST (expressed sequence tags) u svinja Pig EST collection database	http://pede.dna.affrc.go.jp/index.html
PigEST	Baza kolekcija EST (expressed sequence tags) u svinja Pig EST collection database	http://pigest.ku.dk/download/index.html



PREGLEDNI RAD

Molekularni pristup u istraživanju kvalitete svinjskog mesa

ZNANSTVENO STRUČNI DIO

research of some organism's genome. As this represents an important step in research of pork meat quality by a molecular approach, the paper presents a review of all available Internet bases dedicated to research of pig genome.

Key words: pork meat quality, major gene, QTL, candidate gene, genomic bases

ZUSAMMENFASSUNG DER MOLEKULARE ZUGANG BEI DER FORSCHUNG DER SCHWEINEFLEISCHQUALITÄT

Die Forschung der Qualität des Schweinefleisches stellt ein komplexes Problem und die ständige Beschäftigung der Forscher dar. Eigenschaften, die die Fleischqualität bestimmen, sind schwer durch übliche Selektionsmethoden zu fördern, dies wegen ihrer relativ niedrigen Erblichkeit und der Tatsache, dass sie quantitativ sind.

Gerade die molekulare Genetik bietet mit ihrem Instrumentarium die Überwindungsmöglichkeiten der erwähnten Beschränkungen. In der Arbeit ist eine Übersicht der bisherigen Erzielungen hinsichtlich der Forschung der Schweinefleischqualität durch die Anwendung von drei Grundzügen gegeben: Forschung der Majorgene, Forschung von loco der quantitativen Eigenschaften (QTL) und Forschung der potentiellen Kandidatgene. Heutzutage besteht eine Reihe von zugänglichen Genombasen, die eine Prüfung von Markern, QTL oder Polymorphismen eines Nukleotiden (SNP) bei der Forschung eines Organismus ermöglichen. Da dies einen wichtigen Schritt bei der Forschung von Schweinefleischqualität durch den molekularen Zugang darstellt, gibt diese Arbeit eine Übersicht aller zugänglichen Internetbasen, die sich mit Forschung des Schweinegenoms befassen.

Schlüsselwörter: Schweinefleischqualität, Majorgen, QTL, Kandidatgen, Genombasen

SOMMARIO APPROCCIO MOLECOLARE NELLA RICERCA DI QUALITÀ DELLA CARNE SUINA

Ricerca della qualità della carne suina è un problema complesso e una preoccupazione costante di quelli che la fanno. La sua ereditabilità è relativamente bassa, ma è anche estremamente difficile far progredire le caratteristiche qualitative che determinano la qualità di carne usando i soliti metodi selettivi. La genetica molecolare è appunto quella che con i suoi attrezzi offre le possibilità di superare questi limiti. Questo brano rappresenta i conseguimenti nell'ambito di questo tema – nella ricerca della qualità della carne suina sono stati applicati tre approcci base di

genetica molecolare: la determinazione del geno major, la ricerca del luogo (locus) delle caratteristiche quantitative (QTL) e la ricerca dei potenziali geni candidati. Oggi esiste tutta una serie di accessibili basi genomiche, che aiutano l'esaminazione dei marker, i QTL o i polimorfismi di un nucleotide nella ricerca dei genomi di un organismo. Siccome questo rappresenta un passo molto importante nella ricerca della qualità di carne suina tramite l'approccio molecolare, questo lavoro offre il ripasso di tutte le basi su Internet, addette alla ricerca del genoma suino.

Parole chiave: qualità di carne suina, geno major, QTL, geno candidato, basi di genomi

LITERATURA

Andresen, E., P. Jensen (1977): Close linkage established between the HAL locus for halothane sensitivity and the PHL (phosphohexose isomerase) locus in pigs of the Danish Landrace breed. Nord. Vet. Med. 31, 229-232.

Beuzen, B. D., M. J. Stear, K. C. Chang (2000): Molecular markers and their use in animal breeding-review. Vet. J. 160, 42-52. doi: 10.1053/tvjl.20.

Carlton, J.G., P. J. Cullen (2005): Sorting nexins. Curr. Biol. 15, 819-820.

Christian, L.L. (1972): A review of the role of genetics in animal stress susceptibility and meat quality. In: Cassens, R.G., F. Giesler, Q. Kolb, Editors, Pork Quality Symposium. University of Wisconsin, Madison, 1972, Proceedings. str. 91-115.

Christian, L.L. (1974): Halothane test for PSS-field application. American association of swine practitioners conference, Des Moines, Iowa, Proceedings. str. 6-13.

Ciobanu, D., J. Bastiaansen, M. Malek, J. Helm, J. Woollard, G. Plastow, M. Rothschild (2001): Evidence for new alleles in the protein kinase adenosine monophosphate-activated g3-subunit gene associated with low glycogen content in pig skeletal muscle and improved meat quality. Genetics 159, 1151-1162.

Enfält, A. C., K. Lundström, I. Hansson, S. Johansen, P. E. Nyström (1997a): Comparison of non-carriers and heterozygous carriers of the RN₋ allele for carcass composition, muscle distribution and technological meat quality in Hampshire-sired pigs. Livest. Prod. Sci. 47, 221-229.

Ernst, C. W., A. Robic, M. Yerle, L. Wang, M. F. Rothschild (1998.): Mapping of calpastatin and three microsatellites to porcine chromosome 2q2.1±q2.4. Anim. Genet. 29, 212-215.

Fields, B., R. E. Klont, S. J. Jungst, E.R. Wilson, G. S. Plastow, A. A. Sosnicki (2002): New DNA marker affecting muscle glycogen content: practical implications for pork quality. Proceedings 48th International Congress of Meat Science and Technology 25-30 August, Rome, Italy (2002), str. 620-621.

Fujii, J., K. Otsu, F. Zorzato, S. De Leon, V. K. Khanna, J. E. Weiler, P. J. O'Brien, D. H. MacLennan (1991): Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. Science 253, 448-451.

Gerbens, F., G. Rettenberger, J. A. Lenstra, J. H. Veerkamp, M. F. W. Te Pas (1997): Characterisation, chromosomal localization and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein



Molekularni pristup u istraživanju kvalitete svinjskog mesa

- in gene. *Mamm. Genome* 5, 328-332.
- Goll, D.E., V.F. Thompson, R.G. Taylor, A. Ouali** (1998): The calpain system and skeletal muscle growth. *Can. J. Anim. Sci.* 78, 503-512.
- Houde, A., S.A. Pommier, R. Roy** (1993): Detection of the ryanodine receptor mutation associated with malignant hyperthermia in purebred swine populations. *J. Anim. Sci.* 71, 1414-1418.
- Hofmann, K.** (1994.): What is quality? Definition, measurement and evaluation of meat quality. *Meat Focus International* 3 (2), 73-82
- Janss, L.L.G., J. A. M. Van Arendonk, E. W. Brascamp** (1997): Bayesian Statistical Analyses for Presence of Single Genes Affecting Meat Quality Traits in a Crossed Pig Population. *Genetics* 145, 395-408.
- Jonsäll, A., L. Johansson, K. Lundström** (2000): Effects of red clover silage and RN genotype on sensory quality of prolonged frozen stored pork (*M. Longissimus dorsi*). *Food Quality and Preference* 11, 371-376.
- Josella A., A-C. Enfältb, G. von Sethc, G. Lindahlb, I. Hedenbro-Velandere, L. Anderssonb, K. Lundströmb** (2003): The influence of RN genotype, including the new V1991 allele, on the eating quality of pork loin, *Meat Sci.* 65, 1341-1351
- Judge, M.D.** (1972): A review of possible methods to detect stress susceptibility and potential and potential low quality pork. In: Cassens, R.G., F. Giesler, Q. Kolb, Editors, *Pork Quality Symposium*. University of Wisconsin, Madison, 1972, Proceedings. str. 91-115.
- van Laack, R. L. J. M., S. G. Stevens, K. J. Stadler** (2001): The influence of ultimate pH and intramuscular fat content on pork tenderness and tenderization. *J. Anim. Sci.* 77, 225-232.
- Lefaucheur L., D. Milan, P. Ecolan, C. Le Callennec** (2004). Myosin heavy chain composition of different skeletal muscles in Large White and Meishan pigs. *J. Anim. Sci.* 82, 1931-1941.
- Le Roy, P., J. M. Elsen, P. Sellier** (1990.a): Evidence for a new major gene influencing meat quality in pigs. *Genet. Res.* 55, 33-40.
- Le Roy, P., J. C. Caritez, J. M. Elsen, P. Sellier** (1994.a): Pigmeat quality:experimental study on the RN locus. 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. 7-12 August 1994. University of Guelph, Canada, Proceedings, vol. 19. str. 473-476.
- Le Roy, P., G. Monin, J. M. Elsen, J. C. Caritez, A. Talmant, B. Lebret, L. Befoucher, J. Mourot, H. Juin, P. Sellier** (1996.b): Effect oft he RN genotype on growth and carcass traits in pigs. 47th Annual Meeting oft he European Association for Animal Production, 26-29 August 1996, Lillehammer, Norway, paper AG7.9 (8 pp).
- Le Roy, P., J. M. Elsen, J. C., Caritez, A. Talmant, H. Juin, P. Sellier, G. Monin** (2000). Comparison between the three porcine RN genotypes for growth, carcass composition and meat quality traits. *Genet. Sel. Evol.* 32, 165-186.
- Liu, M., P. Jian, X. Dequan, Z. Rong, L. Fenge, L. Jiali-an** (2007): Associations of MYF5 gene polymorphisms with meat quality traits in different domestic pig (*Sus scrofa*) populations. *Genet. Mol. Biol.*; 30(2): 370-374. doi: 10.1590/S1415-47572007000300012.
- Milan, D., J.-T. Jeon, C. Looft, V. Amarger, A. Robic, M. Thelander, C. Rogel-Gaillard, S. Paul, S., Iannuccelli, L. Rask, H. Ronne, H., Lunstrom, N. Reinsch, J. Gellin, E. Kalm, P. Le Roy, P. Chardon, L. Andersson** (2000): A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. *Science* 288, 1248-1251.
- Miller, K. D., M. Ellis, B. Bidner, F. K. McKeith, E. R. Wilson** (2000): Porcine longissimus glycolytic potential level on growth performance, and carcass and meat quality characteristics. *J. Muscle Foods* 11, 169-181.
- Minkema, D., G. Eikelenboom, P. Van Eldik** (1977): Inheritance of MHS-susceptibility in pigs. In: 3rd international conference on production disease in farm animals. Pudoc, Wageningen, The Netherlands, Proceedings, str. 203-207.
- Naveau, J.** (1986): Contribution a l'étude du determinisme génétique de la qualité de la viande porcine. Heritabilité du rendement technologique Napole. *Journées Rech. Porcine en France* 18, 265-276.
- Nezer, C., L. Moreau, D. Wagenaar, M. Georges** (2002): Results of a whole genome can targeting QTL for growth and carcass traits in a Pietrain x Large white intercross. *Genet. Sel. Evol.* 34, 371-387.
- Olivier, L., P. Sellier, G. Monin** (1975): Determinismus genetique du syndrome d'hyperthermie maligne chez le porc de Pie-train. *Ann. Genet. Sel. Anim.* 7, 159-166.
- Otto, G., R. Roehe, H. Looft, L. Thoelking, P.W. Knap, M.F. Rothschild, G.S. Plastow, E. Kalm** (2007): Associations of DNA markers with meat quality traits in pigs with emphasis on drip loss. *Meat Sci.* 75, 185-195
- Olivo C., A. Clop, J. L. Noguera, M. A. Oliver, C. Barragan, C. Rodriguez, L. Silio, M.A.Toro, A. Coll, J. M. Folch, A. Sanchez, D. Babot, L. Varona, M. Perez-Enciso** (2002): Quantitative trait locus mapping for meat quality traits in an Iberian x Landrace F2 pig population. *J. Anim. Sci.* 80, 2801-2808.
- Sellier, P.** (1998): Genetics of meat and carcass traits. U *The genetics of the pig* Urednici: Rothschild, M. F., A. Ruvinsky. CAB International, Cambridge (GBR), 1998, 463-493.
- Ślawinska, A., M. Siwek, E. F. Knol, D. T. Roelofs-Prins, H. J. van Wijk, B. Dibbits, M. Bednarczyk** (2009): Validation of the QTL on SSC4 for meat and carcass quality traits in a commercial crossbred pig population. *J. Anim. Breed. Genet.* 126, 43-51.
- Smolensky, A. V., S. H. Gilbert, M. Harger-Allen, L. E. Ford** (2007): Inhibition of myosin light-chain phosphorylation inverts the birefringence response of porcine airway smooth muscle. *J. Physiol.* 578, 563-568.
- Wardle R. L., M. GU, Y. Ishida, R. J. Paul** (2007): Rho kinase is an effector underlying Ca^{2+} -desensitizing hypoxic relaxation in porcine coronary artery. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 293, H23-H29.
- Yuang, X.Q., H. Liu, L. J. Guo, Y. Xu, D. Liu** (2006.): The mutation site analysis on CAPN1 gene of Wild boar, Min pig and Yorkshire, Yi chuan xue bao = Acta Genet. Sin. 55
- <http://www.animalgenome.org/QTLdb/>

Prispjelo: 25. ožujka 2009.

Prihvaćeno: 29. svibnja 2009. ■