

POLIMORFIZMI PRKAG3 GENA I KAKVOĆA MESA SVINJA**D. Karolyi, T. Čurić, V. Držaić****Sažetak**

Česta pojava povećanog nakupljanja glikogena u mišićima i nizak konačni pH mesa kod svinja Hampshire pasmine i njezinih križanaca imaju genetsku osnovu. Uvjetuje ga dominantni mutirani RN^- alel (*R200Q* supstitucija) na *PRKAG3* genskom lokusu smještenom na 15. kromosomskom paru. *PRKAG3* ("Rendimento Napoli" ili RN) gen kodira specifičnu izoformu $\gamma 3$ -pod-jedinice adenzin-monofosfat (AMP) aktivirane protein-kinaze (AMPK), ključnog enzima uključenog u regulaciji energetskog metabolizma stanice. Kod RN^- mutanata je zbog visoke razine glikolitičkog supstrata (glukoze) u mišićima produljen pad pH *post mortem*, uz nisku konačnu pH-vrijednost mesa (tzv. "kiselo meso"). Uz niski pH, ovakvo meso je svjetlije boje, reducirane sposobnosti vezanja vode, nižeg sadržaja proteina i općenito lošije preradbene kakvoće u odnosu na normalnu svinjetinu. Osim RN^- mutacije, pronađeno je još nekoliko funkcionalno značajnih polimorfizama na *PRKAG3* genu, od kojih je najvažniji rn^* alel (*V199I* supstitucija), koji prevladava u većine komercijalnih pasmina, a na kakvoću mesa djeluje suprotno od RN^- alela. Genski testovi za otkrivanje *PRKAG3* polimorfizama danas su komercijalno dostupni, te ih uzgajivači svinja širom svijeta mogu koristiti u selekciji protiv RN^- mutacije, ili kao pomoć u poboljšanju kakvoće mesa primjenom drugih molekularnih markera *PRKAG3* gena.

Ključne riječi: *PRKAG3*, polimorfizam, RN^- alel, Hampshire pasmina, kakvoća mesa.

Uvod

Kako znamo, na kakvoću svinjskog mesa može utjecati niz različitih čimbenika, od genotipa svinja, hranidbe i proizvodnog sustava, do predklačničkih postupaka, omamljivanja i klanja ili uvjeta tijekom hlađenja i prerade mesa. Brojna istraživanja provedena tijekom proteklih nekoliko desetljeća dovela su do značajnih poboljšanja glede utjecaja farme, transporta ili klaonice na kakvoću svinjskog mesa.

Dr.sc. Danijel Karolyi, izvanredni profesor, Zavod za opće stočarstvo, Valentino Držaić, mag.ing.agr., asistent, Zavod za specijalno stočarstvo, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10 000 Zagreb, Hrvatska; Tomislav Čurić, mag.ing.agr., Novigradska 21A, 48 326 Virje, Hrvatska; kontakt e-mail: dkarolyi@agr.hr.

Tradicionalne uzgojne metode također su tijekom godina omogućile veliki selekcijski napredak, naročito u pogledu poboljšanja sastava trupa svinja. Međutim, tek su nedavna dostignuća na području molekularne genetike, računalne biologije i genomike, omogućila sagledavanje uzroka genetske varijabilnosti kakvoće svinjskog mesa na razini DNK molekule, te u mnogim primjerima značajno olakšale rad uzgajivačima.

Ekspresija svojstava značajnih za kakvoću mesa uglavnom je pod kontrolom brojnih gena malog pojedinačnog utjecaja. Međutim, pojedinačni geni također mogu biti odgovorni za relativno velik dio fenotipske varijabilnosti u nekim obilježjima kakvoće mesa. Kod svinja je do sada utvrđeno više takvih major gena čiji je utjecaj na kakvoću mesa danas uglavnom dobro poznat i opisan (npr. Vries i sur., 2000; Rosenvold i Andersen, 2003; Jerković i sur., 2009). Jedan od gena naglašenog fenotipskog učinka na kakvoću svinjetine je i *PRKAG3* (Rendement Napole ili *RN*) gen, te je u ovom radu dat kratak pregled najvažnijih dosadašnjih spoznaja o njegovom otkriću, funkciji, polimorfizmima i njihovom utjecaju na mišićni metabolizam i svojstva mesa .

Otkriće PRKAG3 (Rendement Napole ili RN) gena i njegov utjecaj na kakvoću mesa svinja

Na moguće djelovanje dominantnog gena koji nepovoljno utječe na kakvoću svinjskog mesa, a da se pri tome nije radilo o tada već dobro poznatom RYR1 genu, prvi su ukazali Monin i Sellier (1985) i Naveau (1986) koji su kod svinja pasmine Hampshire i s njom povezanih francuskih sintetskih linija Panshire i Laconie uočili učestaliju pojavu mesa ekstremno niske pH-vrijednosti (tzv. "kiselo" meso), sniženog sadržaja proteina i višeg kalcija u proizvodnji salamurenih/kuhanih Pariških šunki. Postojanje odgovornog genskog lokusa, nazvanog Rendement Napole (*RN*) prema francuskom nazivu metode procjene tehnološkog prinosa šunki, ubrzo su potvrdili Le Roy i sur. (1990) segregacijskom analizom hibrida koji su sadržavali

Hampshire linije. Istraživanja koja su uslijedila pokazala su da prisutnost dominantnog RN^- alela povećava nakupljanje glikogena u bijelim (glikolitičkim) mišićima homozigota i heterozigotnih nosioca, što rezultira produljenom glikolizom *post mortem* i nižim konačnim pH mesa u odnosu na recesivne rn^+ homozigote (Monin i sur., 1992; Fernandez i sur., 1992; Estrade i sur., 1993; Gariépy i sur., 1999; Miller i sur., 2000). Osim visoke razine mišićnog glikogena (> glikolitički potencijal) i niske konačne pH vrijednosti, meso nositelja dominantnog alela RN^- alela uobičajeno ima bljeđu boju (> L^* vrijednost) i veći gubitak slobodne vode (> kapaoni gubitak), kao što je prikazano na tipičnom primjeru u Tablici 1. Također je utvrđeno da je RN^- alel gotovo u potpunosti pasminski specifičan (tzv. Hampshire efekt), te da njegova prisutnost istovremeno pozitivno utječe na toвне performanse i mesnatost tovljenika (Enfält i sur., 1997, Le Roy i sur., 2000; Miller i sur., 2000).

Tablica 1. – UTJECAJ RN GENOTIPA NA KVALITETU M. LONGISSIMUS DORSI (Gariépy i sur., 1999)
Table 1. – EFFECT OF RN GENOTYPE ON QUALITY OF M. LONGISSIMUS DORSI (Gariépy et al., 1999)

Karakteristike kakvoće mesa <i>Meat quality traits</i>	Genotip <i>Genotype</i>		P-vrijednost <i>P-value</i>
	rn^+ (n=35)	RN^- (n=51)	
Glikolitički potencijal* (μmol/g) <i>Glycolytic potential</i>	154,90 ± 4,60	272,0 ± 9,70	<0.001
Konačni pH (pH ₂₄) <i>Ultimate pH</i>	5,77 ± 0,06	5,45 ± 0,05	<0.001
Vrijednost L^* parametra boje <i>Color L^* value</i>	47,70 ± 1,01	51,79 ± 0,97	<0.001
Gubitak slobodne vode (%) <i>Drip loss</i>	4,52 ± 0,70	8,65 ± 0,76	<0.001

*GP = 2 x ([glikogen] + [glukoza] + [glukoza-6-fosfat]) + [laktat] (Monin i Sellier, 1985)

Paralelno s segregacijskim analizama fenotipskih podataka, vršena je i intenzivna potraga za uzrokom RN^- mutacije na molekularnoj razini. RN lokus prvo je lociran na 15–om kromosomskom paru svinje (Looft i sur., 1996; Mariani i sur., 1996; Milan i sur., 1996), a nakon nekoliko godina i velikog truda konačno je otkriveno da je dominantna

RN^- mutacija posljedica supstitucije u *PRKAG3* genu iz skupine gena za kodiranje adenzin-monofosfat (AMP) aktivirane protein kinaze (AMPK), ključnog enzima u regulaciji energetske homeostaze u stanicama eukariota (Milan i sur., 2000).

Struktura i mehanizam djelovanja AMPK enzima i RN^- mutacija

AMPK je heterotrimerni proteinski kompleks građen iz katalitičke (α) i regulatornih (β , γ) pod-jedinica od kojih svaka ima specifičnu ulogu za stabilnost i aktivnost enzima. Svaka pod-jedinica ima nekoliko izoformi pa tako prema Kempu i sur. (2004), kod sisavaca, α - katalitička pod-jedinica postoji u dvije izoforme ($\alpha 1$, $\alpha 2$), dok β i γ regulatorne pod-jedinice postoje u dvije ($\beta 1$, $\beta 2$) odnosno tri ($\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$) izoforme. *PRKAG3* gen kodira za skeletne mišiće specifičnu treću izoformu $\gamma 3$ regulatornu pod-jedinicu AMPK. Energetsko-regulacijska funkcija AMPK zasniva se na "prepoznavanju" kolebanja staničnog omjera AMP:ATP (adenozin-trifosfat), čiji porast u slučaju nutritivnog ili drugog staničnog stresa aktivira enzim vezanjem AMP-a na γ podjedinicu. Aktivirani AMPK u stanici potiče procese proizvodnje a suprimira procese potrošnje metaboličke energije u cilju očuvanja staničnog ATP-a (Thornton i sur., 1998; Hardie i sur., 1998). Pored toga, danas se zna da AMPK modulira i niz drugih staničnih procesa s dugotrajnijim učincima na metabolizam, utječući na transkripciju gena, ekspresiju proteina i općenito prilagodbu organizma (Scheffler i sur., 2011).

U spomenutom otkriću Milana i sur. (2000) pronađeno je pet nesinonimnih supstitucija na *PRKAG3* genu: N30T, G52S, L53P, V199I i R200Q. Dominantnu RN^- mutaciju odgovornu za "Hampshire efekt", uzrokuje R200Q supstitucija, koja nastaje nukleotidnom zamjenom gvanina za adenin (G→A) na 200-tom kodonu, što na proteinskoj razini rezultira zamjenom aminokiseline arginin s glutaminom (Arg200→Gln). Zbog takve netipične aminokiselinske sekvence γ - regulatorne pod-jedinice, AMPK postaje gotovo nesenzibilan na signale intracelularne energetske deficijencije (Ignoul i Eggermont, 2005). Prvotno se

vjerovalo da je kod RN^- svinja aktivnost AMPK enzima snižena (Milan i sur., 2000). Međutim, kasnija istraživanja R200Q i sličnih supstitucija γ podjedinica kod svinja, kao i homolognih mutacija u ljudi (vidi recentni pregled Scheffler i sur., 2011), utvrdila su da gubitak AMP ovisnosti zapravo povećava aktivnost AMPK enzima. Danas se smatra da kronična aktivacija $\gamma 3$ podjedinice AMPK kod RN^- mutiranih svinja povećava oksidativni kapacitet glikolitičkih skeletnih mišića i njihovu adaptaciju na efikasnije iskorištavanje masnih kiselina kao izvora energije, što omogućava da se više glukoze usmjeri u sintezu glikogena (Scheffler i sur., 2011). Transformaciju na više oksidativni mišićni fenotip, zajedno uz tkivnu-specifičnost $\gamma 3$ podjedinice AMPK, potvrđuje tipična i do 70 % veća akumulacija glikogena u mišićima, ali ne i u jetrima i srčanom mišiću RN^- mutanata, utvrđena u prethodnim istraživanjima (Monin i sur., 1992; Estrade i sur., 1993; Milan i sur., 2000).

Druge funkcionalno značajne mutacije na PRKAG3 genu

Otkriće lokusa kvantitativnih svojstava (od eng. *Quantitative Trait Loci*) koji utječe na sadržaj mišićnog glikogena, smještenog u regiji PRKAG₃ gena u populaciji ne-mutiranih $rn+$ svinja (Malek i sur., 2001) ukazalo je na mogući utjecaj i drugih alelnih polimorfizama ovog gena na kakvoću mesa. Potvrdu ove hipoteze donose Coibanu i sur. (2001), koji utvrđuju vezu između tri dodatne nesinonimne supstitucije (N30T, G52S i V199I) na PRKAG₃ genu, sadržaja glikogena i s njime povezanih svojstava kakvoće mesa kod 5 komercijalno značajnih pasmina: Landrasa, Velikog Yorkshira, Berkshira, Duroca i sintetičke linije Duroca. Funkcionalno najvažnijom pokazala se supstitucija V199I (Val199→Ile) koja je bila povezana uz značajno niže razine glikogena i glikolitičkog potencijala i viši konačni pH mesa. Ova je mutacija prethodno već utvrđena u populaciji Hampshira, Velikog Yorkšira i kod nerasta divlje svinje (Milan i sur., 2000), a nalazi se pored kodona 200 (Slika 1) na kojem je kod Heampshira i njegovih križanaca utvrđena R200Q supstitucija ($RN^-/rn+$ polimorfizam).

Slika 1. Prikaz dijela PRKAG₃ nukleotidne sekvence svinje, uključujući aminokiseline, utvrđene N30T, G52S, V199I i R200Q mutacije i posljedične promjene u aminokiselinama (prema Rothschild i sur., 2005)

Figure 1. Part of swine PRKAG₃ nucleotide sequence, including aminoacids, determined N30T, G52S, V199I i R200Q mutations and resulted changes in aminoacids (after Rothschild et al., 2005)

```

1  ATGAGCTTCCTAGAGCAAGGAGAGAGCCGTTTCATGSCCATCCCAGCTGTAACCACCAGCTCAGAAAGAA
   M S F L E Q G E S R S W P S R A V T T S S E R
       30
       AcC
       T
71  GCCATGGGGACCAGGGGAaCAAGGCCTCTAGATGGACAAGGCAGGAGGATGTAGAGGAAGGGGGCCCTCC
   S H G D Q G M K A S R W T R Q E D V E E G G P P
       52
       aGT
       S
141 GGGCCCGAGGGAaGTCCCCAGTCCAGGCCAGTTGCTGAGTCCACCAGGGCAGGAGGCCACATTCCCCAAG
   G P R E G P Q S R P V A E S T G Q E A T P P K
211 GCCACACCCTTGGCCCAAGCCGCTCCCTTGGCCGAGGTGGACAACCCCCAACAGAGCCGGACATCCTCC
   A T P L A Q A A P L A E V D N P P T E R D I L
281 CCTCTGACTGTGCAGCCTCAGCCTCCGACTCCAACACAGACCATCTGGATCTGGGCATAGAGTTCTCAGC
   P S D C A A S A S D S N T D H L D L G I E F S A
351 CTCGGCGGCGTCCGGGGATGAGCTTGGGCTGGTGAAGAGAAGCCAGCCCCGTGCCCATCCCCAGAGGTG
   S A A S G D E L G L V E E K P A P C P S P E V
421 CTGTTACCCAGGCTGGGCTGGGATGATGAGCTGCAGAAGCCGGGGCCAGGTCTACATGCACCTTCATGC
   L L P R L G W D D E L Q K P G A Q V Y M H F M
491 AGGAGCACACCTGCTACGATGCCATGGCGACCAGCTCCAACTGGTCATCTTCGACACCATGCTGGAGAT
   Q E H T C Y D A M A T S S K L V I F D T M L E I
       199200
       aTCCaA
       I Q
561 CAAGAAGGCCTTCTTTGCCCTGGTGGCCAACGGGgTCCgAGCGGCACCTTTGTGGGACAGCAAGAAGCAG
   K K A F F A L V A N G V R A A P L W D S K K Q

```

Zbog izostanka rekombinacije između susjednih kodona (199 i 200) ovi individualni polimorfizmi definirani su kao 199V–200R ("divlji" tip, rn^+), 199V–200Q ("Hampshire efekt", RN^-) i 199I–200R, naknadno nazvan rn^* . Po svom djelovanju treći funkcionalno značajni polimorfizam na *PRKAG3* genu bio je suprotan od djelovanja RN^- alela, budući da je snižavao mišićni glikogen i povećavao pH *post mortem*. U filogenetskom smislu, haplotipovi 199V-200R i 199I-200R, koji su utvrđeni u većine pasmina svinja, uključujući i divlju svinju, jesu stariji od gotovo u potpunosti pasminski specifičnog 199V-200Q haplotipa u Hampshira (Coibanu i sur., 2001).

Ova otkrića, naročito u svjetlu potencijalnih implikacija za poboljšanje kakvoće mesa tovljenika na široj komercijalnoj razini, potaknula su daljnja istraživanja različitih alelnih kombinacija *RN* genotipova. Generalno, studije Fields i sur. (2002), Andersson (2003), Josell i sur. (2003a i b), Lindahl i sur. (2004), Otto i sur. (2007) i niza drugih autora, potvrdile su niže razine glikogena, laktata, GP i viši mišićni pH kod životinja nositelja 199I-200R alela (rn^*) u odnosu na 199V-200R (rn^+) alel. Istodobno, 199V-200Q (RN^-) alel je uvijek bio povezan uz najviši sadržaj glikogena i najniži pH, te općenito slabiju kakvoću svinjetine mjerenu kroz sposobnost vezanja vode, boju, kalo kuhanja, sadržaj proteina i/ili kiseli okus, ali uz neke iznimke, vezane primjerice uz otpornost na presijecanje, sočnost i mekoću mesa. Ovo potonje, Josell i sur. (2003a i b) povezuju uz naglašenije proteolitičke promjene kod RN^- nosioca izazvane bržim padom pH *post mortem*. U odnosu na rn^+ i rn^* alele, koji se mogu naći u istraživanim kombinacijama genotipova, RN^- alel je u svom djelovanju uvijek dominant (Lindahl i sur., 2004), što također potvrđuje danas prihvaćeni aktivirajući karakter R200Q mutacije y3 pod-jedinice AMPK. Primjer utjecaja polimorfizma *PRKAG3* gena na kakvoću i senzorna svojstva svinjskog mesa prikazani je u tablici 2.

Tablica 2. Kakvoća i senzorna svojstva mesa (*m. logissimus dorsi*) različitih RN genotipova (prema Josell i sur., 2003a)
 Table 2. Meat quality and sensory traits (*m. logissimus dorsi*) of different RN genotypes (after Josell et al., 2003a)

Svojstva Traits	RN ⁺ /RN ⁻	RN ⁺ /rn ⁻	Genotip Genotype RN ⁺ /rn ⁻	rn ⁺ /rn ⁺	rn ⁺ /rn ⁻
<i>Kakvoća mesa</i> <i>Meat quality</i>					
pH ₄₅	6,49	6,44	6,47	6,51	6,55
pH _{3h}	6,15b	5,90a	6,12b	6,18b	6,15b
pH _{24h}	5,46a,b	5,41a	5,44a,c	5,50b,c	5,52b
pH _{48h}	5,35a	5,35a	5,35a	5,38a,b	5,45b
Glikogen (μmol/g) <i>Glycogen</i>	297,0a,c	310,8a	243,6c	80,0b	68,4b
Bjelančevine (%) <i>Proteins</i>	21,0a	21,6a	21,4a	22,9b	22,7b
Voda (%) <i>Water</i>	76,4a	76,0a	79,4a	75,3b	75,3b
Otpor na presjecanje (Nm ²) <i>Shear force</i>	65,3a,b	61,1a	67,2a,b	77,6b	75,8b
Gubitak kuhanjem (%) <i>Cooking loss</i>	30,7a	30,2a	30,6a	26,2b	26,5b
<i>Senzorna svojstva</i> <i>Sensory traits</i>					
Otpor kod žvakanja <i>Chewing resistance</i>	44,0	39,4	38,3	44,9	45,2
Vrijeme žvakanja <i>Chewing time</i>	58,9	57,4	53,6	59,6	59,5
Mekoća <i>Tenderness</i>	50,5	53,6	56,3	48,8	46,8
Sočnost <i>Juiciness</i>	65,2a,b	63,3a,b	65,7a	60,5b	61,3b
Okus mesa <i>Meat taste</i>	56,0a	56,5a,b	59,4b	57,8a,b	56,6a,b
Kiselost <i>Acidity</i>	34,3a	33,1a,c	28,8b,c	24,9b	25,4b

Prosjeci u istom redu označeni različitim slovima značajno se razlikuju: (P<0,05)
 Means within a row with different letters are significantly different: (P<0.05)

Istraživanja polimorfizama *PRKAG3* gena se nastavljaju. Na molekularnoj razini, u fokusu je njihova interakcija s drugim već poznatim ili kandidatnim genima od značaja za regulaciju metabolizma mišićnog glikogena za života i *post mortem* (npr. Fontanesi i sur., 2008; Škrlep i sur., 2010). Istodobno, uz poznate promjene u

metabolizmu glikogena, danas sve važnijim postaje značaj i drugih metaboličkih razlika koje postoje između $\gamma 3$ AMPK mutiranog i normalnog mišića, bez čijeg razumijevanja nije u potpunosti moguće sagledati tijek i opseg *post mortalnog* metabolizma i njegovu ulogu u razvoju kakvoće mesa (Scheffler i sur., 2011).

Zaključak

Kronologija otkrića *PRKAG3* gena (Rendement Napole ili *RN*) gena i utjecaja njegovih funkcionalno značajnih polimorfizama na kakvoću mesa svinja, jedan su od najzornijih primjera velikog napretka kojeg su donijeli razvoj i primjena molekularne genetike u stočarstvu u posljednjem desetljeću. Genski testovi za otkrivanje *PRKAG3* polimorfizama danas su u komercijalnoj upotrebi, te ih uzgajivači svinja širom svijeta mogu koristiti u selekciji protiv *RN⁻* mutacije, ili kao pomoć u poboljšanju kakvoće mesa primjenom drugih molekularnih markera *PRKAG3* gena. U odnosu na tradicionalnu selekciju i prikupljanje fenotipskih podataka, primjena ovakvih i sličnih informacija na razini DNK molekule, omogućila je znatno ranije donošenje selekcijskih odluka i povećala selekcijski napredak u populacijama.

LITERATURA

1. Andersson, L. (2003): Identification and characterization of AMPK gamma 3 mutations in the pig, *Biochemical Society Transactions*, 31 (1): 232-235.
2. Ciobanu, D., Bastiaansen, J., Malek, M., Helm, J., Woollard, J., Plastow, G., Rothschild, M. (2001): Evidence for new alleles in the protein kinase adenosine monophosphate-activated gamma(3)-subunit gene associated with low glycogen content in pig skeletal muscle and improved meat quality, *Genetics*, 159: 1151–1162.
3. Enfalt, A.C., Lundstrom, K., Karlsson, A., Hansson, I. (1997): Estimated frequency of the *RN⁻* allele in Swedish Hampshire pigs and comparison of glycolytic potential, carcass composition, and technological meat quality among Swedish Hampshire, Landrace, and Yorkshire pigs, *Journal of Animal Science*, 75: 2924–2935.
4. Estrade, M., Vignon, X., Rock, E. and Monin, G. (1993): Glycogen hyperaccumulation in white muscle fibres of *RN⁻* carrier pigs. A biochemical and ultrastructural study, *Comparative Biochemistry and Physiology*, B 104: 321–326.

5. Fernandez, X., Tornberg, E., Naveau, J., Talmant, A., Monin, G. (1992): Bimodal distribution of the Muscle Glycolytic Potential in French and Swedish Populations of Hampshire Crossbred Pigs, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 59: 307–311.
6. Fields, B., Klont, R.E., Jungst, S.J., Wilson, E.R., Plastow, G.S., Sosnicki, A.A. (2002): New DNA marker affecting muscle glycogen content: practical implications for pork quality. *Proceedings 48th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST)*, 25–30 August, Rome, Italy, 620–621.
7. Fontanesi, L., Davoli, R., Nanni Costa, L., Beretti, F., Scotti, E., Tazzoli, M., Tassone, F., Colombo, M., Buttazzoni, L., Russo, V. (2008): Investigation of candidate genes for glycolytic potential of porcine skeletal muscle: Association with meat quality and production traits in Italian Large White pigs, *Meat Science*, 80: 780-787.
8. Gariépy, C., D. Godbout, X. Fernandez, A. Talmant, A. Houde (1999): The effect of RN gene on yields and quality of extended cooked cured hams, *Meat Science*, 52 (1): 57-64.
9. Hardie, D.G., Carling, D., Carlson, M. (1998): The AMP-activated/SNF1 protein kinase subfamily: metabolic sensors of the eukaryotic cell?, *Annual Review of Biochemistry*, 67: 821–855.
10. Ignoul, S., Eggermont, J. (2005): CBS domains: structure, function, and pathology in human proteins, *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 289:1369-1378.
11. Jerković, I., Đurkin, I., Margeta, V., Kralik, G., Kušec, G. (2009): Molekularni pristup u istraživanju kvalitete svinjskog mesa, *Meso*, 11 (3): 180-188.
12. Josell, A., Enfält, A.C., Von Seth, G., Lindahl, G., Hedebrö-Velander, I., Andersson, L., Lundström, K. (2003a): The influence of RN renoype, including the new V199I allele, on the eating quality of pork loin, *Meat Science*, 65: 1341-1351.
13. Josell, A., Martinsson, L., Tornberg, E. (2003b): Possible mechanism for the effect of the RN⁻ allele on pork tenderness, *Meat Science*, 64: 341–350.
14. Kemp, E. (2004): Bateman domains and adenosine derivatives form a binding contract, *The Journal of Clinical Investigation*, 113 (2): 182–184.
15. Le Roy P., Naveau, J., Elsen, J.M., Sellier, P. (1990): Evidence for a new major gene influencing meat quality in pigs, *Genetical Research*, 55 (1): 33-40.
16. Le Roy, P., Elsen, J.M., Caritez, J-C., Talmant, A., Juin, H., Sellier, P., Monin G. (2000): Comparison between the three porcine RN genotypes for growth,carcass composition and meat quality traits, *Genetics Selection Evolution*, 32 (2): 165-186.

17. Lindahl, G., Enfält, A-C., Seth, G., Josell, Å., Hedebro-Velandere, I., Andersen, H. J., Braunschweig, M., Andersson, L., Lundström, K. (2004): A second mutant allele (V199I) at the PRKAG₃ (RN) locus - I. Effect on technological meat quality of pork loin, *Meat Science*, 66 (3): 609-619.
18. Looft, C., Reinsch, N., Rudat, I., Kalm, E. (1996): Mapping the porcine RN gene to chromosome 15, *Genetics Selection Evolution*, 28: 437-442.
19. Malek, M., Dekkers, J.C., Lee, H.K., Baas, T.J., Prusa, K., Huff-Lonergan, E., Rothschild, M.F. (2001): A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. II. Meat and muscle composition, *Mammalian Genome*, 12: 637-645.
20. Mariani, P., Lundstrom, K., Gustafsson, U., Enfalt, A.C., Juneja, R.K., Andersson, L. (1996): A major locus (RN) affecting muscle glycogen content is located on pig chromosome 15. *Mammalian Genome*, 7: 52-54.
21. Milan, D., Woloszyn, N., Yerle, M., Le Roy, P., Bonnet, M., Riquet, J., Lahbib-Mansais, Y., Caritez, J.C., Robic, A., Sellier, P., Elsen, J.M., Gellin, J. (1996): Accurate mapping of the "acid meat" RN gene on genetic and physical maps of pig chromosome 15, *Mammalian Genome*, 7: 47-51.
22. Milan, D., Jeon, J.T., Looft, C., Amarger, V., Robic, A., Thelander, M., Rogel-Gaillard, C., Paul, S., Iannuccelli, N., Rask, L., Ronne, H., Lundstrom, K., Reinsch, N., Gellin, J., Kalm, E., Roy, P.L., Chardon, P., Andersson, L. (2000): A mutation in PRKAG₃ associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle, *Science*, 288: 1248-1251.
23. Miller, K.D., Ellis, M., Bidner, B., McKeith, F.K., Wilson, E.R. (2000): Porcine Longissimus glycolytic potential level effects on growth performance, carcass, and meat quality characteristics, *Journal of Muscle Foods*, 11 (3): 169-181.
24. Monin, G., Sellier, P. (1985): Pork of low technological quality with a normal rate of muscle pH fall in the immediate post mortem period, *Meat Science*, 13 (1): 49-63.
25. Monin, G., Brard, C., Vernin, P., Naveau, J. (1992): Effects of the RN- gene on some traits of muscle and liver in pigs. *Proceedings of 38th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST)*, 23-28 August 1992, Clermont-Ferrand, France, 371-394.
26. Naveau, J. (1986): Contribution a l'etude du determinisme genetique de la qualite de la viande porcine. Heritabilite du rendement technologique Napole, *Journées de la Recherche Porcine en France*, 18, 265-276.
27. Otto, G., Roehe, R., Looft, H., Thoelking, L., Knap, P.W., Rothschild, M.F., Plastow, G.S., Kalm, E. (2007) : Associations of DNA markers with meat quality traits in pigs with emphasis on drip loss, *Meat Science*, 75, 185-195.
28. Rosenvold, K., Andersen, J. (2003): Factors of significance for pork quality - a review, *Meat Science*, 64, 219-237.

29. Rothschild, M.F., Coibanu, D.C., Malek, M., Plastow, G. (2005): PRKAG3 alleles and the use of the same as genetic markers for reproductive and meat quality traits, United States Patent, Patent No.: US 6,919,177 B2, Date: Jul.19, 2005.
30. Scheffler, T.L., Park, S., Gerrard, D.E. (2011): Lessons to learn about postmortem metabolism using the AMPK γ 3R200Q mutation in the pig, Meat Science, 89: 244-250.
31. Škrlep, M., Kavar, T., Čandek-Potokar, M. (2010): Comparison of PRKAG3 and RYR1 gene effect on carcass traits and meat quality in Slovenian commercial pigs, Czech Journal of Animal Science, 55 (4): 149-159.
32. Thornton, C., Snowden, M.A., Carling, D. (1998): Identification of a novel AMP-activated protein kinase beta subunit isoform that is highly expressed in skeletal muscle, Journal of Biological Chemistry, 273, 12443-12450.
33. Vries, A. G., Faucitano, L., Plastow, G. S. (2000): The use of gene technology for optimal development of pork meat quality, Food Chemistry, 69, 397-405.

PRKAG₃ GENE POLYMORPHISMS AND PORK QUALITY

Summary

The frequent occurrence of glycogen hyper-accumulation and low ultimate pH in the meat of Hampshire pig breed and its crossbreeds has genetic background. It is caused by mutated dominant RN^- allele on *PRKAG3* (R200Q substitution) gene loci located at pig chromosome 15. *PRKAG3* (also known as Rendement Napole or RN) gene encodes a specific γ 3-subunit of adenosine monophosphate (AMP)-activated protein-kinase (AMPK), a key enzyme involved in regulation of energy metabolism of the cells. In RN^- mutants, due to the high levels of glycolytic substrate (glucose) in muscles, the pH fall *post mortem* is extended with low ultimate pH of meat ("acid meat"). Beside the low pH, such a meat is paler in colour, with reduced water holding capacity, lower protein content and, generally has poorer processing quality compared with normal pork. In addition to RN^- mutation in Hampshire populations, several other functionally significant polymorphisms of *PRKAG3* has been determined, e.g., rn^* allele (V199I substitution), which prevails in most commercial pig breeds and acts contrary to RN^- on meat quality. Genetic test for *PRKAG3* gene polymorphisms are now commercially available and pig breeders around the world may use them in selection against RN^- mutation, or as a help to improve meat quality by using the other molecular markers of *PRKAG3*.

Key words: *PRKAG3*, polymorphisms, RN^- allele, Hampshire pig, meat quality.

Primljeno: 30.11.2012.