

# PRKAG3 在猪组织器官中的表达差异及与胴体品质关系研究

李梦云, 陈代文\*, 张克英

(四川农业大学动物营养研究所, 雅安 625014)

**摘要:** PRKAG3 是编码一磷酸腺苷激活蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK) $\gamma$ 3 亚基的基因, 是近年来确定的一个影响猪肉 pH 值、肉色以及系水力的主效基因, 其突变 R200Q 与过量肌糖原含量有关, 被认为是汉普夏猪发生 RN<sup>-</sup> 突变的根本原因。本研究以  $\beta$ -actin 作为内参, 用半定量 RT-PCR 方法测定雅南猪和杜×长×大三元杂交猪(DLY 猪)PRKAG3 基因在心脏、肝脏、肾和骨骼肌中表达差异, 并测定猪胴体品质。结果表明, PRKAG3 主要在骨骼肌中表达, 在心脏中有少量表达, 而在肝脏和肾中未见表达, 在不同品种的骨骼肌中, 雅南猪 PRKAG3 基因的相对表达量高于 DLY 猪( $P=0.078$ )。相关分析结果表明: 骨骼肌中 PRKAG3 基因的表达量与屠宰率、眼肌面积和背膘厚关系不大, 而与肌肉脂肪含量成正相关( $r=0.832$ )。

**关键词:** PRKAG3; 猪; 组织器官; 基因表达; 胴体品质

中图分类号: S828.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2006)06-0566-05

## PRKAG3 Gene Expression Difference in Tissues and Organs and the Relationships between Its Relative Expression and Carcass Traits in Pigs

LI Meng-yun, CHEN Dai-wen\*, ZHANG Ke-ying

(Institute of Animal Nutrition, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014, China)

**Abstract:** PRKAG3 gene, which encodes AMP-activated protein kinase(AMPK) $\gamma$ 3 subunit, was considered as a major gene of affecting meat quality traits such as muscle pH, color and water-holding capacity, and its nonconservative substitution(R200Q) associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle is the reason of causing RN<sup>-</sup> effect. In present study, semi-quantitative RT-PCR was applied to determine the PRKAG3 gene expression difference in heart, liver, kidney and skeletal muscle of Ya-Nan and DLY pigs, and the data were normalized using the  $\beta$ -actin gene as internal control. Additionally, carcass traits, including undressing percentage, backfat thickness, eye lean area and intramuscular fat were measured. The results suggested that PRKAG3 was mainly expressed in skeletal muscle and less in heart, but not in liver and kidney. In skeletal muscle, PRKAG3 gene expression of Ya-Nan pigs was higher than that of DLY pigs ( $P=0.078$ ). Correlation analyses showed that the relative expression of PRKAG3 gene had no relation to undressing percentage, backfat thickness and eye lean area, but had positive relation to intramuscular fat( $r=0.832$ ).

**Key words:** PRKAG3; pigs; tissues and organs; gene expression; carcass traits

收稿日期: 2005-08-16

基金项目: 国家“973”项目(2004CB117506)

作者简介: 李梦云(1970-), 女, 湖北监利人, 博士, 主要从事猪营养与分子营养的研究。E-mail: limengyun1@163.com

\* 通讯作者: 陈代文, 教授, 博士生导师, Tel: 0835-2885106; E-mail: chendwz@sicau.edu.cn

AMPK 是一种能被腺苷一磷酸(AMP)激活的蛋白激酶,在动物应激(生理、营养、环境和疾病等)过程中起着重要作用<sup>[1,2]</sup>。在动物应激时,被激活的 AMPK 主要通过改变机体内脂类和糖代谢,使其朝着抑制 ATP 消耗、促进 ATP 生成的方向进行,细胞能量迅速得到恢复,从而对细胞 ATP 耗尽作出反应<sup>[3]</sup>。其中 AMPK 在糖代谢中起着非常重要的作用。研究表明,激活的 AMPK 可通过磷酸化作用抑制糖原合成酶活性,降低糖原的合成速率<sup>[4]</sup>。而且肌肉中 AMPK 的激活,还可导致葡萄糖转运子 4 (GLUT-4)从细胞内移位到细胞浆膜上,促进肌肉对葡萄糖的吸收能力,从而提高骨骼肌中肌糖原含量<sup>[5,6]</sup>。

AMPK 是由  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  三个亚基构成的异源三聚体。 $\alpha$  为催化亚基,有  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  两种同工型。 $\beta$  和  $\gamma$  为调节亚基, $\beta$  亚基有  $\beta_1$  和  $\beta_2$  两种同工型, $\gamma$  亚基有  $\gamma_1$ 、 $\gamma_2$ 、和  $\gamma_3$  三种同工型。其中 PRKAA1 和 PRKAA2 分别编码  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  亚基;PRKAB1 和 PRKAB2 分别编码  $\beta_1$  和  $\beta_2$  亚基;PRKAG1、PRKAG2 和 PRKAG3 分别编码  $\gamma_1$ 、 $\gamma_2$ 、和  $\gamma_3$  亚基<sup>[7]</sup>。Milan 等<sup>[8]</sup>首次报道,汉普夏猪 PRKAG3 基因第 200 个密码子发生突变(Arg<sup>200</sup>→Gln<sup>200</sup>),使 AMPK 活性降低,从而使骨骼肌中糖原含量升高 70%,最终导致猪肉终 pH 值降低,是引起 RN<sup>-</sup>效应的根本原因。2001 年 Ciobanu 等<sup>[9]</sup>又证实,PRKAG3 中紧邻 Arg<sup>200</sup> 的 Val<sup>199</sup>→Ile<sup>199</sup> 突变具有与 RN<sup>-</sup>相反效应,它使骨骼肌中糖原含量降低,因而有利于改善肉质。由此表明 PRKAG3 基因可能是一个影响肉质性状的主效基因。

对人和小鼠的研究表明,PRKAG3 基因主要在骨骼肌中表达,但目前关于 PRKAG3 基因在猪各组织器官中表达情况以及其表达量与猪胴体组成和肉质性状是否相关还未见报道。因此本研究的目的就是探讨不同品种猪 PRKAG3 基因在不同组织器官中的表达差异,以及这种表达差异是否与胴体品质有关,为下一步研究该基因对肉质的影响提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验动物及处理

本试验采用单因子试验设计,考察不同品种猪 PRKAG3 基因在不同组织器官中的表达差异,以及该基因在骨骼肌中的相对表达量是否与胴体品质有

关。挑选相同体重的雅南猪和杜×长×大(DLY)猪各 5 头,在相同环境条件下饲喂,当体重达到 80 kg 左右时屠宰。快速取出 10 g 左右的心脏、肝脏、肾和第 10 根肋骨处背最长肌样品,迅速在液氮中冷冻,-70 ℃ 保存,用于提取总 RNA,并同时测定胴体品质,包括屠宰率、眼肌面积、背膘厚和肌内脂肪含量。

### 1.2 总 RNA 提取

取猪肝脏、心脏、肾和背最长肌样品各 30 mg,加入液氮并研磨成粉,收集入 1.5 mL Eppendorf 管中,用于总 RNA 的提取,整个提取过程按 QIAGEN 公司试剂盒(Rneasy mini kit)操作说明进行。提取的总 RNA 通过凝胶电泳检测其完整性,并测定总 RNA 在 260 nm 和 280 nm 处的 OD 值,以检测 RNA 样品的纯度。

### 1.3 RT 反应

按照 TaKaRa 公司 RNA PCR Kit (AMV) Ver. 3.0 试剂盒进行 RT 反应。用从肝脏、心脏、肾和背最长肌中提取的总 RNA 分别作为模板进行 RT 反应。反应体系:RNA 酶抑制剂 0.25  $\mu$ L、MgCl<sub>2</sub> 2  $\mu$ L、Oligo dT 引物 1  $\mu$ L、dNTP Mixture 1  $\mu$ L、总 RNA 4.25  $\mu$ L、10×RT 缓冲液 1  $\mu$ L、反转录酶 0.5  $\mu$ L。总体积为 10  $\mu$ L。反应程序:30 ℃ 10 min、42 ℃ 2 h、99 ℃ 5 min、5 ℃ 5 min。反应结束立即进行 PCR 反应或-20 ℃ 保存。

### 1.4 PCR 反应

1.4.1 引物的设计与合成 PRKAG3 引物根据基因序列(GenBank: AF214520),内参  $\beta$ -actin 引物根据基因序列(GenBank: U07786)设计,引物由大连宝生物公司合成,各引物序列见表 1。

表 1 PRKAG3 和  $\beta$ -actin 基因引物序列

Table 1 The primer sequences of PRKAG3 and  $\beta$ -actin gene

基因 Genes	引物序列 Primer sequences	扩增片段大小 Size of amplified fragments/bp
PRKAG3	F 5'-CTTGGGCTGGTGAAGAGAA-3'	269
	R 5'-CCCACGAAGCTCTGCTTCTT-3'	
$\beta$ -actin	F 5'-CGGGACCTGACCGACTACCT-3'	411
	R 5'-GGCCGTGATCTCCTTCTGC-3'	

### 1.4.2 PCR 反应体系与程序

反应体系:cNDA 模板 1  $\mu$ L、MgCl<sub>2</sub> 1.2  $\mu$ L、dNTP Mixture 0.25  $\mu$ L、5×PCR Buffer 5  $\mu$ L、

PRKAG3 上游引物、PRKAG3 下游引物、 $\beta$ -actin 上游引物、 $\beta$ -actin 下游引物各  $0.5 \mu\text{L}$ 、TaKaRa Ex Taq<sup>TM</sup> HS( $5 \text{ U}/\mu\text{L}$ )酶  $0.25 \mu\text{L}$ 、 $0.1\%$  DEPC 处理水  $15.3 \mu\text{L}$ 。反应总体积为  $25 \mu\text{L}$ 。反应程序:  $94^\circ\text{C}$  变性  $6 \text{ min}$ , 然后  $94^\circ\text{C}$   $30 \text{ s}$ ,  $55^\circ\text{C}$   $40 \text{ s}$ ,  $72^\circ\text{C}$   $40 \text{ s}$ , 共 32 个循环, 最后  $72^\circ\text{C}$  再延伸  $5 \text{ min}$ 。反应结束后, 立即进行电泳。

### 1.5 RT-PCR 扩增产物的电泳和定量分析

取 RT-PCR 扩增产物  $5 \mu\text{L}$ , 加入溴酚兰  $2.5 \mu\text{L}$ , 于  $1.5\%$  的琼脂糖凝胶上点样, 然后在  $1\times$  TAE 缓冲液中电泳,  $50 \text{ min}$  后于紫外成像仪上照相, 并同标准分子量比较, 初步判断产物分子量。再用成像分析系统对电泳条带密度进行扫描, 获各条带光密度, 然后算出 PRKAG3 基因在各组织中的相对表达量。

PRKAG3 基因相对表达量 = 该基因 RT-PCR 产物电泳条带密度/ $\beta$ -actin RT-PCR 产物电泳条带密度。

### 1.6 统计分析

采用 SPSS 统计软件 10.0 对数据进行方差分析和相关性分析。试验结果用 Means $\pm$ SE 表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 组织样品 RNA 的完整性与纯度检测

图 1 是从肾、心脏、肌肉和肝脏样品中提取的总 RNA 凝胶电泳图, 从图中可见, 各样品提取的总 RNA 较为完整。另外, RNA  $\text{OD}_{260}$  与  $\text{OD}_{280}$  的比值均大于 1.8, 说明提取的 RNA 样品纯度较好, 可进行下一步操作。



1. 肾; 2. 心脏; 3. 背最长肌; 4. 肝脏  
1. Kidney; 2. Heart; 3. Longissimus; 4. Liver

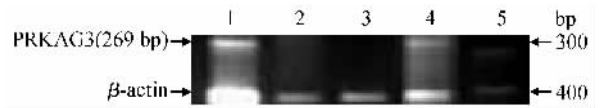
图 1 各样品中总 RNA 凝胶电泳图

Fig. 1 The gel electrophoresis bands of RNA from samples

### 2.2 PRKAG3 基因在不同组织器官中的表达差异

图 2 和图 3 分别为雅南猪和 DLY 猪 PRKAG3 基因在心脏、肝脏、肾和背最长肌中的 RT-PCR 产物电泳图。从凝胶电泳图中可以看出, 两个品种猪的背最长肌和心脏泳道都有一扩增产物的条带, 位

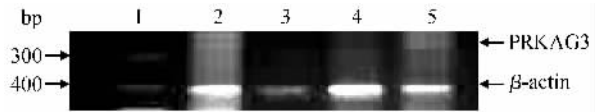
于 Marker 200 bp 至 300 bp 之间, 靠近 300 bp, 而在肝脏和肾中未见扩增产物的条带, 这说明 PRKAG3 基因主要在背最长肌和心脏中表达, 而在肝脏和肾中未见表达或者是表达量太微弱以至未检测出来。同时通过定量分析软件分析发现, PRKAG3 基因在背最长肌中的表达量又高于心脏中的。其中雅南猪 PRKAG3 基因在背最长肌中的表达量极显著高于心脏中的表达量 ( $P < 0.01$ ), DLY 猪 PRKAG3 基因在背最长肌中的表达量显著高于心脏中的表达量 ( $P < 0.05$ )。上述结果表明 PRKAG3 基因主要在骨骼肌中表达, 在心脏中也有少量表达, 而在肝脏和肾中未见表达。



1. Heart; 2. Liver; 3. Kidney; 4. Longissimus; 5. Marker

图 2 雅南猪 PRKAG3 基因在各组织器官中的表达

Fig. 2 PRKAG3 gene expression profiles in different tissues and organs of Ya-Nan Pigs



1. Marker; 2. Heart; 3. Liver; 4. Kidney; 5. Longissimus

图 3 DLY 猪 PRKAG3 基因在各组织器官中的表达

Fig. 3 PRKAG3 gene expression profiles in different tissues and organs of DLY Pigs

### 2.3 PRKAG3 基因在不同品种猪背最长肌中的表达差异

PRKAG3 基因在不同品种猪背最长肌中的表达情况见表 2, 从表 2 可以看出, 背最长肌中雅南猪 PRKAG3 基因表达量高于 DLY 猪中的, 但两者差异不显著 ( $P = 0.078$ )。

表 2 PRKAG3 在心脏和背最长肌中的相对表达量

Table 2 The relative expression of PRKAG3 gene in heart and longissimus

PRKAG3 表达量 PRKAG3 gene expression	背最长肌 Longissimus	心脏 Heart
雅南猪 Ya-Nan pigs	$0.724 \pm 0.0196$	$0.307 \pm 0.0276$
DLY 猪 DLY pigs	$0.617 \pm 0.0660$	$0.406 \pm 0.0269$
P 值 P values	0.078	0.101

## 2.4 背最长肌中 PRKAG3 基因相对表达量与胴体品质之间的关系

表 3 为两个猪品种的背最长肌中 PRKAG3 基因相对表达量及胴体品质的测定结果,发现雅南猪和 DLY 猪背最长肌中 PRKAG3 基因相对表达量差异较大( $P=0.078$ ),且雅南猪背膘厚和肌肉脂肪

含量大于 DLY 猪( $P$  值分别为 0.094 和 0.026),眼肌面积和屠宰率在两猪种间差异不显著。进一步进行相关分析发现,PRKAG3 基因表达量与肌肉脂肪含量成显著正相关( $r=0.832$ ),而与背膘厚、眼肌面积和屠宰率相关性不大,如表 4 所示。

表 3 PRKAG3 相对表达量与胴体品质的关系

Table 3 The relationships between relative expression of PRKAG3 gene and carcass traits in longissimus

性状 Traits	雅南猪 Ya-Nan pigs	DLY 猪 DLY pigs	$P$ 值 $P$ values
PRKAG3 表达量 PRKAG3 gene expression	0.724±0.019 6	0.617±0.066 0	0.078
背膘厚 Backfat thickness/cm	3.19±0.16	2.70±0.20	0.094
眼肌面积 Eye lean area/cm <sup>2</sup>	20.76±1.42	22.19±0.83	0.380
肌肉脂肪 Intramuscular fat/%	4.84±0.01	4.08±0.01	0.226
屠宰率 Undressing percentage/%	75.76±3.51	76.63±1.15	0.612

表 4 PRKAG3 基因表达量与胴体性状间相关系数

Table 4 Correlation coefficients among PRKAG3 gene expression and carcass measurements

性状 Traits	PRKAG3 表达量 Gene expression	屠宰率 Undressing percentage	肌肉脂肪 Intramuscular fat	眼肌面积 Eye lean area	背膘厚 Backfat thickness
PRKAG3 表达量 Gene expression	1	-0.018	0.832*	-0.127	0.031
屠宰率 Undressing percentage	-0.018	1	-0.423	-0.510	0.015
肌肉脂肪 Intramuscular fat	0.832*	-0.423	1	0.277	0.131
眼肌面积 Eye lean area	-0.127	-0.510	0.277	1	-0.433
背膘厚 Backfat thickness	0.031	0.015	0.131	-0.433	1

\* 表示相关系数在 0.05 水平上显著

\* denotes correlation is significant at the 0.05 level

## 3 讨论

### 3.1 PRKAG3 基因在不同组织器官中的表达差异

和 AMPK 其它亚基相比,PRKAG3 基因的表达具有组织特异性。Milan 等<sup>[8]</sup>用 Northern 杂交分析比较人 PRKAG1、PRKAG2 和 PRKAG3 在各组织中的 mRNA 含量,发现 PRKAG1 和 PRKAG2 在各种组织中均广泛表达,而 PRKAG3 只在骨骼肌中特异性表达。另外,PRKAG3 在各组织器官中的表达情况还存在动物物种间的差异。Barnes 等<sup>[10]</sup>通过 Real-time PCR 检测 PRKAG3 在小鼠各组织器官中的 mRNA 含量,表明 PRKAG3 除了在骨骼肌(腓肠肌、四头肌和比目鱼肌)中表达外,在心脏中还有小量表达。Mahlpuu 等<sup>[11]</sup>比较了人、小鼠和大鼠 PRKAG3 基因在各组织中的表达情况,结果发现人和大鼠的 PRKAG3 基因只在骨骼肌中表达,而在心脏、肝脏、肾脏、脑和白色脂肪组织等其它组织器官中都未见表达;小鼠的 PRKAG3 基因主要在骨骼肌中表达,在心脏中有少量表达,在其它组织中检测不到。而且 PRKAG3 基因的在骨骼肌中的表达还与肌纤维类型有关,即主要在快速酵解

的 II 型白色纤维(II B 型纤维)中表达,在快速氧化的 II 型红色纤维(II A 型纤维)和慢速收缩纤维(I 型纤维)中表达量较低。

但目前这方面的报道还存在争议。Cheung 等<sup>[12]</sup>用免疫沉淀法进行活性分析发现,在大鼠肝脏、肺、心肌、骨骼肌、肾脏和胰腺中 AMPK- $\gamma_1$  的活性占总 AMPK 活性的 80%~90%,AMPK- $\gamma_2$  活性占 10%~20%,而 AMPK- $\gamma_3$  的活性非常弱;但是在脑和睾丸中三种同工型复合物提供的活性差异不大,特别在脑中  $\gamma_1$ 、 $\gamma_2$  和  $\gamma_3$  复合物提供的活性分别占 36%、36%和 27%。Yu 等<sup>[13]</sup>使用特异性抗体通过 Western bolt 检测 PRKAG3 在骨骼肌中的表达情况,结果发现 PRKAG3 在快速酵解的白色纤维(II B 型纤维)中表达量较高,而在比目鱼肌(I 型纤维)中检测不到。

本试验首次检测 PRKAG3 基因在猪不同组织器官中的表达情况,发现 PRKAG3 基因主要在骨骼肌中表达,在心脏中也有少量表达,这与在人和大鼠上的研究结果不太一致,有可能是物种间的差异所致。本试验结果和其它研究均表明,PRKAG3 基因主要是在骨骼肌中表达,PRKAG3 这种特异表达模式表明它在骨骼肌中具有独特的生理作用,也就

是可能会对肉质有影响。这对从分子水平改善肉质具有非常重要的意义。

### 3.2 PRKAG3 基因表达量与胴体品质的关系

Enfalt 等<sup>[14]</sup>从长白和汉普夏杂交猪中分离出 PRKAG3 基因中的 3 种基因型,即 RN<sup>-</sup>(Val<sup>199</sup>-Gln<sup>200</sup>),rn<sup>+</sup>(Val<sup>199</sup>-Arg<sup>200</sup>)和 rn\* (Ile<sup>199</sup>-Arg<sup>200</sup>),并比较它们对肉质和胴体组成的影响,结果表明 PRKAG3 基因的两个突变位点 RN<sup>-</sup>和 rn\* 对肉质和胴体组成具有相反的效应:RN<sup>-</sup>型个体具有较高的肌糖原含量、高瘦肉率和低的终 pH 值,而 rn\* 型个体则与低肌糖原含量、低瘦肉率和高终 pH 值相关。但这只是从遗传变异的角度来研究 PRKAG3 基因对猪胴体组成和肉质的影响,并没有测定该基因的表达量与胴体组成和肉质的关系。目前关于 PRKAG3 基因表达量与猪胴体组成和肉质性状是否相关还未见报道。本试验首次研究 PRKAG3 基因相对表达量与胴体组成之间的关系,发现 PRKAG3 基因的表达量与屠宰率、眼肌面积和背膘厚相关性不大,而与肌内脂肪含量成正相关( $r=0.832$ )。

本试验还表明,雅南猪背最长肌中 PRKAG3 基因表达量高于 DLY 猪,而雅南猪为中国地方猪品种,肉质要优于三元杂交 DLY 猪,因而有可能暗示 PRKAG3 基因表达量对肉质有影响。但本试验没有同时测 AMPK 的活性和肉质性状,因此骨骼肌中 PRKAG3 的表达量与 AMPK 活性之间的关系及其对肉质的影响还有待于进一步的研究。

### 参考文献:

- [1] Ponticos M, Lu Q L, Morgan J E, *et al.* Dual regulation of the AMP-activated protein kinase provides a novel mechanism for the control of creatine kinase in skeletal muscle[J]. *EMBO J*, 1998, 17: 1 688~1 699.
- [2] Park S H, Gammon S R, Knippers J D, *et al.* Phosphorylation-activity relationships of AMPK and acetyl-CoA carboxylase in muscle[J]. *J Appl Physiol*, 2002, 92: 2 475~2 482.
- [3] Hardie D G, Carling D. The AMP-activated protein kinase—fuel gauge of the mammalian cell? [J]. *Eur J Biochem*, 1997, 246: 259~273.
- [4] Hardie D G, Hawley S A. AMP-activated protein kinase: the energy charge hypothesis revisited [J]. *Bioessays*, 2001, 23: 1 112~1 119.
- [5] Holmes B F, Kurth-Kraczek E J, Winder W W. Chronic activation of 5'-AMP-protein kinase increases GLUT-4, hexokinase, and glycogen in muscle[J]. *J Appl Physiol*, 1999, 87: 1 990~1 995.
- [6] Winder W W, Holmes B F, Rubink D S, *et al.* Activation of AMP-activated protein kinase increases mitochondrial enzymes in skeletal muscle[J]. *J Appl Physiol*, 2000, 88: 2 219~2 226.
- [7] Woods A, Peter C, Cheung F, *et al.* Characterization of AMP-activated protein kinase  $\beta$  and  $\gamma$  subunits[J]. *Biol Chem*, 1996, 271: 10 282~10 290.
- [8] Milan D, Jeon J T, Christian L, *et al.* A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle[J]. *Science*, 2000, 288: 1 248~1 251.
- [9] Ciobanu D, Bastiaansen J, Malek M, *et al.* 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[J]. *Genetics*, 2001, 159(3): 1 151~1 162.
- [10] Barnes B R, Mahlapuu M, Johansson C, *et al.* The 5'-AMP-activated protein kinase  $\gamma$ 3 isoform has a key role in carbohydrate and lipid metabolism in glycolytic skeletal muscle[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 38 441~38 447.
- [11] Mahlapuu M, Johansson C, Lindgren K, *et al.* Expression profiling of the  $\gamma$ -subunit isoforms of AMP-activated protein kinase suggests a major role for  $\gamma$ 3 in white skeletal muscle[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2004, 286: E194~E200.
- [12] Cheung P C, Salt I P, Davies S P, *et al.* Characterization of AMP-activated protein kinase gamma-subunit isoforms and their role in AMP binding[J]. *Biochem*, 2000, 346: 659~669.
- [13] Yu H Y, Fujii N, Hirshman M F, *et al.* Cloning and characterization of mouse 5'-AMP-activated protein kinase  $\gamma$ 3 subunit[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 286: 283~292.
- [14] Enfalt A C, vonSeth G, Lundstrom K, *et al.* A third allele (V1991) at the RN locus with effect on carcass composition and meat quality[A]. *Proceedings 48<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology [C]*. Rome, 2002. 618~619.