

以豬第一號染色體微衛星型遺傳標記交替基因頻率與序列比較經產母豬產仔性能⁽¹⁾

廖仁寶⁽²⁾ 黃鈺嘉⁽²⁾ 賴永裕⁽²⁾ 顏念慈⁽²⁾
吳明哲⁽²⁾ 張秀鑾⁽³⁾⁽⁴⁾

收件日期：95 年 1 月 2 日；接受日期：95 年 2 月 22 日

摘要

豬第一號染色體上的八個微衛星型遺傳標記 SW1514、SW552、SW2185、SW1301、SW373、SW780、S0316、SW2130，在第一號染色體連鎖圖譜約佔 140 分摩根。本研究以八個遺傳標記分析 157 頭純種母豬 DNA 的基因型，比較不同基因型母豬之總產仔數、活仔數及仔豬存活率。每個遺傳標記之交替基因頻率，皆有品種間的差異。以最小平方方法分析個別遺傳標記交替基因在產仔性能之效應：杜洛克母豬具 SW1514B3 交替基因 ($P < 0.001$) 和 SW1301B1 交替基因 ($P < 0.01$)，其總產仔數比未具有該交替基因者顯著地多。而藍瑞斯母豬具 SW373B5 交替基因 ($P < 0.01$) 與杜洛克母豬具 SW1514B3 交替基因 ($P < 0.01$)，其產仔活仔數亦顯著地比未具有者高。同樣地，不同品種母豬具有某些交替基因，其產仔性能則會比未具有該交替基因者差。選殖與定序分析 SW373 和 SW780 交替基因 DNA 序列，發現 SW373 之重複區為不同數目 TG 雙核苷酸重複所構成，其核苷酸重複型式可區分成四種分別為 $(TG)_pAG(TG)_q$ 、 $(TG)_pAG(TG)_qAG(TG)_rAG$ 、 $(TG)_pAG(TG)_qAG(TG)_rAGTGAG$ 、 $(TG)_pAG(TG)_qG(TG)_rAG(TG)_sAGTGAG$ ；而 SW780 之重複區則由不同數目的兩種雙核苷酸重複和一種四核苷酸重複而構成，其核苷酸重複型式為 $(GT)_x(GA)_y(GACA)_z$ 。因此，每個交替基因變異區的核苷酸重複型式可能複雜。

關鍵詞：微衛星型遺傳標記、交替基因、核苷酸重複。

緒言

一般使用的 DNA 標記有許多種，如 RFLP (Restriction fragment length polymorphism)、RAPD (Random amplified polymorphic DNA)、Minisatellite typing、微衛星鑑別 (Microsatellite typing)、

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 1313 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所遺傳育種組。

(3) 國立屏東科技大學畜產系。

(4) 通訊作者 E-mail: hlachang@mail.npust.edu.tw。

SSCP (Single strand conformation polymorphism)、AFLP (Amplified fragment length polymorphism)、EST (Expressed sequence tag) 及 SNP (Single nucleotide polymorphism) (Dodgson *et al.*, 1997), 每種標記各有其時空背景、優缺點與應用性, 其中微衛星標記應用最廣泛。微衛星標記是指在 DNA 序列中, 含有短的串聯重複的核苷酸通常在 1-5bp 範圍內 (Tautz *et al.*, 1994), 其重複序列有單、雙、三或四個核苷酸, 在這些組合中, 以雙重複者最多見, 含有多態性的交替基因。根據推估, 哺乳類的基因體中每隔 30 kb, 而家禽類每隔 100 kb, 就有一個雙核苷酸重複的標記, 這些串聯重複的核苷酸序列通常位於基因體中未編碼的區域, 此區域含有大量的遺傳變異度。以雙核苷酸重複的標記檢測為例, 其缺點在於偵測這些微小的差異時, 需要相當嚴苛的控制技術, 在以 PCR 進行檢測時往往會出現多餘的條帶 (Smeets *et al.*, 1989), 但目前已經克服此類問題。使用重複序列優點在於使用此法能夠呈現個別動物間遺傳變異度, 亦相當容易去解釋和應用交替基因效果。微衛星標記可用於基因定位 (Cheng, 1997)、親緣鑑定 (Luikart *et al.*, 1999)、遺傳標記輔助選拔的數量性狀基因座 (QTL) 或經濟性狀基因座 (ETL) 的研究 (Cheng, 1997) 及遺傳多樣性分析 (Baker *et al.*, 1997; Saitbekova *et al.*, 1999; van Hooft *et al.*, 1999)。有關雙核苷酸重複序列的功能目前尚位未完全明瞭, 有可能與基因重組相關, 但許多的研究指出, 位於啟動子區域的雙核苷酸重複 (Akai *et al.*, 1999; Shimajiri *et al.*, 1999) 或參核苷酸重複 (Liu *et al.*, 2000a; Liu *et al.*, 2000b) 會影響基因的表現, 而影響的程度與重複數的多寡並無一致性。

母豬的每胎產仔數是高繁殖性能品系培育的一項重要經濟性狀, 而影響這項性狀的基因仍不很清楚。有關以分子遺傳探討豬隻繁殖性能的報告, 不管是在國外或國內皆寥寥可數。國內研究發現, 豬隻第一號染色體上的微衛星型遺傳標記 SW373, 其電泳圖型式若為多片段型者, 其初產仔豬數有較多的趨勢 (張等, 1995)。而具第八號染色體的造骨蛋白 (OPN) 基因雜合型的母豬, 其第一產至第六產的仔豬存活率均較高 (廖等, 1999)。在國外的研究發現, 動情素接受體基因 (Estrogen receptor gene, ESR) (Rothschild *et al.*, 1991, 1994, 1996; Short *et al.*, 1995, 1997a)、主要組織相容複合體基因 (Major histocompatibility complex genes, MHC) (Warner and Rothschild, 1991)、激乳素接受體 (Prolactin receptor, PRLR) (Vincent *et al.*, 1998) 和造骨蛋白標記 (Osteopontin marker, OPN) (Short *et al.*, 1997b) 均與豬隻繁殖性能有關。在利用梅山豬和約克夏的雜交試驗裡, Wilkie *et al.* (1996) 發表一個遺傳標記與窩仔數有關, 該遺傳標記位於第六號染色體; 並發表仔豬死產頭數與第四號染色體和第七號染色體上部份基因有關; 而與排卵數和子宮角長度有關的遺傳標記 SW444, 位於第八號染色體。Rathje *et al.* (1996) 亦初步認為豬排卵數的 QTL 在第八號染色體, 隨後他們確認第八號染色體的長臂末端部位的基因, 具有累加性效應, 可增加 3.07 個卵 (Rathje *et al.*, 1997)。Rothschild *et al.* (1997) 在改進產仔數的分子生物技術文獻檢討後, 認為第八號染色體上有基因會影響到窩仔數, 且有可能是控制排卵數的基因。繁殖性狀的 QTL 亦可能位於第十三號與第十五號染色體上 (Rathje *et al.*, 1997)。因此, 本研究針對豬第一號染色體遺傳標記之掃描分析, 以期發現與母豬產仔性能顯著相關的遺傳標記, 並藉擴大族群之篩檢以正確評估其效益後而應用於種豬產業。

材料與方法

I. 試驗豬隻

採集育種豬場種豬之血液, 使用 DNA 萃取套組 (PUREGENE® DNA Purification Kits, Gentra Systems, Minneapolis, MN) 萃取核內 DNA, 以供遺傳標記檢測用。所分析的種豬有 157 頭種母豬, 其中有 51 頭藍瑞斯豬、54 頭約克夏豬、25 頭杜洛克豬及 27 頭盤克夏豬。

II. 聚合酶連鎖反應 (PCR)

每隔 10-25 cM 挑選豬隻第一號染色體上已知位置之微衛星型遺傳標記引子，微衛星型遺傳標記位置在美國農部豬基因組資料庫 (<http://www.marc.usda.gov/genome/genome.html>) (表1)，進行PCR以鑑別種豬DNA之基因型。PCR的正向引子，其5'端標示有螢光物[如6-carboxy-fluorescein (FAM), tetrachloro-6-carboxy-fluorescein (TET), hexachloro-6-carboxy-fluorescein (HEX)]，反向引子則不需標示螢光物，反應總體積為 10 μ l。其組成份有 20-25 ng 模板 DNA、0.4 mM dNTP、0.25 μ M 每個引子、10 mM Tris-HCl、1.5 mM MgCl₂、50 mM KCl 和 1 unit (單位) *Taq* 聚合酶。反應條件第一步變性：94℃、5分鐘；第二步循環增幅 35 次：94℃、30秒，60℃、30秒，72℃、30秒；第三步延長：72℃、10分鐘，其中黏合溫度因個別引子對而變。

III. 交替基因之鑑別

取 1 μ l 適當稀釋後之 PCR 產物與 0.5 μ l 350 bp 標準品 (GeneScan™-350 [TAMRA]™ size standard, Applied Biosystems, Foster City, USA)、0.5 μ l 載入緩衝液及 3 μ l 去離子甲醯胺混合均勻，於90℃下變性2分鐘後，立即置於冰上備用。於核酸自動定序儀 (ABI Prism 377 DNA sequencer, Applied Biosystems, Foster City, USA) 載入 1.5 μ l 各混合樣本並電泳兩小時後，以 GeneScan 和 Genotyper 軟體 (Applied Biosystems, Foster City, USA) 分析 DNA 片段之大小，以獲取交替基因資料。

IV. 統計分析

種母豬所具有之個別遺傳標記交替基因與其產仔性能，包括總產仔數、活仔數及仔豬存活率，應用 SAS 軟體 GLM 程式及最小平方平均法進行分析與比較。仔豬存活率係以每胎新生仔豬於出生 48 小時後仍健壯存活者計之，並以存活頭數百分比表示。

表 1. 豬第一號染色體微衛星型遺傳標記位置與交替基因數目

Table 1. Locations of the microsatellite markers of swine chromosome 1 and number of alleles observed in this study

USDA-MARC Swine Genome Map					In this study	
Marker	Location	Relative position (cM)	No. of alleles	Allele size (bp)	Annealing temperature, °C	No. of alleles observed
SW1514	1p	0.0	8	146-162	55	8
SW552	1p	9.1	7	112-146	60	10
S0316	1p	33.4	7	127-145	62	10
SW2130	1p	49.4	9	134-174	60	21
SW2185	1p	67.6	8	145-175	55	9
SW780	1q	81.0	7	116-136	62	9
SW373	1q	119.5	6	152-170	55	8
SW1301	1q	140.5	6	144-176	58	8

V. SW373 和 SW780 基因序列選殖

使用套組 (TOPO™ TA Cloning® Kit, Invitrogen, CA, USA) 進行選殖 SW373 和 SW780 基因序列, 先製備反應物, 其組成為 1 μ l PCR 產物、0.5 μ l 載體及 1 μ l 滅菌水, 溫和地混勻, 並在室溫下反應 5 分鐘後, 置在冰上。取 2.5 μ l 反應物至勝任細胞溶液中, 溫和地混勻, 置於碎冰中 30 min。其後進行熱衝擊 42°C、30 秒後, 迅速置於碎冰中 2 分鐘, 再加入 125 μ l SOC 培養基, 於 37°C 下培養 30 分鐘後, 取 75 μ l 菌液塗抹於含 Ampicillin (50 μ g/ml) 及 X-Gal (70 μ g/ml) 之培養基, 並於 37°C 下培養過夜。

VI. SW373 和 SW780 基因序列定序

挑選白色菌落之選殖株, 培養於 3 ml 含 Ampicillin (50 μ g/ml) 之 LB 培養基, 振盪培養過夜 (37°C, 150 rpm)。以質體萃取套組 (Roche, Germany) 萃取其重組質體後, 測定其濃度。取 4 μ l 濃度為 0.8 μ M 之位於載體上用以定序之正向引子 (或反向引子)、4 μ l 重組質體溶液與 8 μ l 定序反應混合液 (BigDye Terminator V 1.0, Applied Biosystems, Foster City, USA), 進行定序反應 (96°C、10 秒, 50°C、5 秒, 60°C、4 分鐘, 25 次增幅), 將標示過之 PCR 產物沈澱、洗鹽、抽乾後重新溶於 4 μ l 載入緩衝液 (去離子甲醯胺: 25 mM EDTA, blue dextran (50 mg/ml) = 5:1), 於 90°C 下變性 2 分鐘後, 迅速置於冰上, 再以核酸自動定序儀電泳分析。

結果與討論

豬隻第一號染色體上之八種微衛星型遺傳標記在四個不同品種的種母豬交替基因的頻率, 如表 2 所示, 每個遺傳標記之交替基因分布, 皆有品種間的差異。經篩檢四個品種種母豬 DNA 後, 得到個別遺傳標記的交替基因數目, 都比美國農部豬基因組資料庫所列的數目多 (表 1), 由此可得知, 不同品種種豬族群的基因多樣性存在, 而基因多樣性正是品種改良的基礎。在八個遺傳標記中, SW2130 的交替基因多達 21 種, 是研究文獻值的兩倍以上, 除特定幾種交替基因的頻率較高外, 其餘交替基因的頻率都相當低。整體而言, 四個豬種以此八個遺傳標記篩檢的結果, 每個標記平均具有的交替基因數目分別為藍瑞斯種 7.1 ± 4.0 、約克夏種 6.0 ± 2.0 、杜洛克種 5.0 ± 1.9 及盤克夏種 5.0 ± 1.7 。

表 2. 藍瑞斯、約克夏、杜洛克及盤克夏豬種之微衛星型遺傳標記交替基因頻率

Table 2. Allele frequencies of porcine microsatellite markers in Landrace, Yorkshire, Duroc, and Berkshire breeds

Alleles of markers	Landrace (n=51)	Yorkshire (n=54)	Duroc (n=25)	Berkshire (n=27)
SW1514B1	0.0543	0.0000	0.0000	0.0000
SW1514B2	0.0000	0.0000	0.2292	0.0577
SW1514B3	0.0000	0.0000	0.1042	0.0192
SW1514B4	0.4348	0.1860	0.5625	0.8654
SW1514B5	0.0761	0.2326	0.0833	0.0000
SW1514B6	0.3696	0.2558	0.0000	0.0385
SW1514B7	0.0109	0.2326	0.0208	0.0192
SW1514B8	0.0543	0.0930	0.0000	0.0000

SW552B1	0.2500	0.1122	0.1087	0.1481
SW552B2	0.0250	0.0000	0.0435	0.0000
SW552B3	0.0000	0.0102	0.0000	0.0000
SW552B4	0.0875	0.0816	0.6304	0.4630
SW552B5	0.0875	0.0000	0.0000	0.0000
SW552B6	0.0000	0.0102	0.0000	0.0000
SW552B7	0.0375	0.1633	0.0217	0.0370
SW552B8	0.3750	0.1429	0.1087	0.1667
SW552B9	0.0625	0.1122	0.0870	0.1852
SW552B10	0.0750	0.3673	0.0000	0.0000
S0316B1	0.6064	0.0000	0.0000	0.0000
S0316B2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0417
S0316B3	0.0000	0.2045	0.0000	0.0000
S0316B4	0.0106	0.0000	0.2000	0.2083
S0316B5	0.0000	0.0000	0.0200	0.0000
S0316B6	0.0745	0.6250	0.3600	0.2917
S0316B7	0.0000	0.0227	0.0200	0.4583
S0316B8	0.0000	0.0000	0.1600	0.0000
S0316B9	0.2872	0.1364	0.2400	0.0000
S0316B10	0.0213	0.0114	0.0000	0.0000
SW2130B1	0.0106	0.0000	0.0000	0.0000
SW2130B2	0.0106	0.0000	0.0417	0.0417
SW2130B3	0.0213	0.0000	0.0000	0.0000
SW2130B4	0.1809	0.0000	0.0208	0.0000
SW2130B5	0.2234	0.0111	0.3958	0.0208
SW2130B6	0.1064	0.0556	0.1042	0.0000
SW2130B7	0.0638	0.0111	0.0000	0.0000
SW2130B8	0.1809	0.5111	0.0000	0.0000
SW2130B9	0.0000	0.0111	0.0000	0.0000
SW2130B10	0.0000	0.0778	0.0000	0.0000
SW2130B11	0.0106	0.0000	0.0000	0.0000
SW2130B12	0.0426	0.0000	0.0000	0.0000
SW2130B13	0.0106	0.0000	0.1667	0.8125
SW2130B14	0.0000	0.0000	0.0000	0.0417
SW2130B15	0.0000	0.0000	0.0000	0.0208
SW2130B16	0.0000	0.0000	0.2083	0.0000
SW2130B17	0.0106	0.0333	0.0000	0.0000
SW2130B18	0.0532	0.0444	0.0208	0.0208
SW2130B19	0.0426	0.2333	0.0417	0.0417
SW2130B20	0.0213	0.0111	0.0000	0.0000

SW2130B21	0.0106	0.0000	0.0000	0.0000
SW2185B1	0.0000	0.0111	0.0000	0.0370
SW2185B2	0.0104	0.0000	0.0000	0.0185
SW2185B3	0.0104	0.0222	0.0000	0.0000
SW2185B4	0.1875	0.6222	0.0000	0.6296
SW2185B5	0.0000	0.0000	0.0000	0.0370
SW2185B6	0.0000	0.0000	0.0000	0.0741
SW2185B7	0.0625	0.0111	0.0833	0.0370
SW2185B8	0.3854	0.0333	0.9167	0.1481
SW2185B9	0.3229	0.3000	0.0000	0.0185
SW2185B10	0.0208	0.0000	0.0000	0.0000
SW780B1	0.0000	0.0000	0.1800	0.0000
SW780B2	0.1702	0.0761	0.0000	0.0385
SW780B3	0.8298	0.6413	0.2600	0.8462
SW780B4	0.0000	0.0000	0.0000	0.0192
SW780B5	0.0000	0.0761	0.5200	0.0000
SW780B6	0.0000	0.0000	0.0400	0.0000
SW780B7	0.0000	0.0000	0.0000	0.0962
SW780B8	0.0000	0.0761	0.0000	0.0000
SW780B9	0.0000	0.1304	0.0000	0.0000
SW373B1	0.0313	0.3778	0.5200	0.0926
SW373B2	0.0833	0.0000	0.0000	0.1852
SW373B3	0.0625	0.0222	0.0000	0.0000
SW373B4	0.6354	0.0667	0.4600	0.1481
SW373B5	0.1250	0.2222	0.0000	0.0000
SW373B6	0.0104	0.0000	0.0000	0.0000
SW373B7	0.0521	0.0000	0.0000	0.0000
SW373B8	0.0000	0.3111	0.0200	0.5741
SW1301B1	0.0000	0.0000	0.0435	0.0000
SW1301B2	0.1667	0.0000	0.0000	0.0577
SW1301B3	0.5000	0.1354	0.2391	0.5769
SW1301B4	0.2111	0.7292	0.5870	0.3654
SW1301B5	0.0000	0.1042	0.0870	0.0000
SW1301B6	0.0111	0.0000	0.0217	0.0000
SW1301B7	0.0444	0.0000	0.0000	0.0000
SW1301B8	0.0667	0.0313	0.0217	0.0000

母豬個別遺傳標記交替基因與其產仔性能之統計分析上，交替基因 SW1514B3 ($P < 0.001$) 與 SW1301B1 ($P < 0.01$) 對杜洛克母豬總產仔數呈較佳之正效應 (表 3)，其餘相關性顯著之交替基因大部分對母豬總產仔數呈負效應。四個品種中，與盤克夏母豬總產仔數相關性顯著的遺傳標記交替基因最少，但都呈正效應 ($P < 0.05$ ，資料未列)。而與藍瑞斯母豬總產仔數相關性顯著之交替基因皆呈負效應 ($P < 0.05$ ，資料未列)。在母豬活仔數與個別遺傳標記交替基因的相關性分析中 (表 4)，得知

表 3. 交替基因對不同品種經產母豬總產仔數之影響

Table 3. The allele effect on the litter size at birth of parous sows among various breeds

Allele of markers	Litter size at birth, head			
	Landrace	Yorkshire	Duroc	Berkshire
SW1514B3 ⁺	—	—	10.3±1.4*** (26)	8.5±1.7(2)
SW1514B3 ⁻	—	—	7.5±1.3(101)	7.9±0.5(71)
S0316B6 ⁺	10.9±1.5(11)	7.4±1.0(140)	4.6±1.2(83)	6.3±0.8(25)
S0316B6 ⁻	9.2±1.0(165)	8.2±0.8(73)	6.5±0.9** (45)	6.4±0.5(42)
S0316B8 ⁺	—	—	4.3±1.3(31)	—
S0316B8 ⁻	—	—	6.8±0.9** (97)	—
SW1301B2 ⁺	—	—	9.2±1.5** (11)	—
SW1301B2 ⁻	—	—	6.8±0.9(107)	—

"+" means with; "-" means without.

"—" means not found.

(#) means number of litters analyzed.

** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$.

表 4. 交替基因對不同品種經產母豬活仔數之影響

Table 4. The allele effect on the litter size born alive of parous sows among various breeds

Allele of markers	Litter size born alive, head			
	Landrace	Yorkshire	Duroc	Berkshire
SW1514B3 ⁺	—	—	5.4±1.4** (26)	—
SW1514B3 ⁻	—	—	3.7±1.3(101)	—
SW1514B4 ⁺	6.9±1.1 (113)	6.7±0.6 (87)	3.2±1.4(104)	6.9±1.0(73)
SW1514B4 ⁻	8.1±0.9 (56)	6.9±0.3 (116)	5.9±1.3*** (23)	—
SW780B5 ⁺	—	5.4±0.7(31)	7.2±1.0(97)	—
SW780B5 ⁻	—	7.1±0.5** (182)	7.7±0.7(31)	—
SW373B5 ⁺	10.4±1.2** (24)	8.1±0.8(31)	—	—
SW373B5 ⁻	8.8±0.9(153)	7.1±0.6 (182)	—	—
SW1301B3 ⁺	5.2±1.2(51)	—	—	4.8±1.1 (5)
SW1301B3 ⁻	7.0±1.0** (115)	—	—	5.2±0.4 (67)

"+" means with; "-" means without.

"—" means not found.

(#) means number of litters analyzed.

** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$.

與品種相關性較佳之交替基因分別為：對藍瑞斯品種呈正效應的交替基因 SW373B5 ($P < 0.01$)。關於 SW373 標記之研究，張等 (1995) 發現具單片段型和多片段型母豬之初產仔豬頭數分別為 8.41 ± 0.33 和 9.14 ± 0.46 頭 ($P > 0.20$)，出生 48 小時候健壯仔豬頭數分別為 7.17 ± 0.32 和 7.28 ± 0.45 ($P > 0.84$)，初步認為基因型為多片段型者，其初產仔豬數有較多的趨勢，而由本研究可進一步確認有利於母豬產仔性能的交替基因。此外，對藍瑞斯品種呈負效應的相關性顯著交替基因有 SW1301B2 ($P < 0.01$)；對約克夏品種呈負效應的交替基因有 SW780B5 ($P < 0.01$)；對杜洛克品種呈正效應的交替基因有 SW1514B3 ($P < 0.01$)，而呈負效應的交替基因則有 SW1514B4 ($P < 0.001$) 與 S0316B8 ($P < 0.01$)。同樣地，與盤克夏母豬活仔數相關性顯著的遺傳標記交替基因最少。而在仔豬存活率與個別遺傳標記交替基因的相關性效應分析中，亦可找到品種特異的遺傳標記交替基因 (表 5)，對約克夏品種呈負效應的交替基因有 SW1514B7 ($P < 0.01$) 與 SW552B6 ($P < 0.01$)；對杜洛克品種呈負效應的交替基因有 SW1514B4 與 SW1514B5 ($P < 0.001$)；及對盤克夏品種呈負效應的交替基因 SW552B1 ($P < 0.01$)。綜合以上結果，具有正效應之交替基因應可供種豬族群篩檢用遺傳標記。

為進一步了解微衛星型遺傳標記內所含的多態性序列的組成，選殖與定序分析各五頭豬遺傳標記 SW373 和 SW780 交替基因 DNA 序列。SW373 之重複區主要為不同數目 TG 雙核苷酸重複所構成，其核苷酸重複型式可區分成四種分別為：第一種為 $(TG)_pAG(TG)_q$ 、第二種為 $(TG)_pAG(TG)_qAG(TG)_rAG$ 、第三種為 $(TG)_pAG(TG)_qAG(TG)_rAGTGAG$ 、第四種為 $(TG)_pAG(TG)_qG(TG)_rAG(TG)_sAGTGAG$ (表 6)。SW780 之重複區則由不同數目的兩種雙核苷酸重複和一種四核苷酸重複所構成，其核苷酸重複型式為 $(GT)_x(GA)_y(GACA)_z$ (表 7)。將

表 5. 交替基因對不同品種經產母豬仔豬存活率之影響

Table 5. The allele effect on the survival rate of piglets of parous sows among various breeds

Allele of marker	Survival rate of piglets, %			
	Landrace	Yorkshire	Duroc	Berkshire
SW1514B4 ⁺	88.7±6.9 (113)	76.50±4.5 (87)	37.9±10.9(104)	—
SW1514B4 ⁻	87.8±5.8 (56)	79.20±2.3 (116)	55.0±10.5**(23)	—
SW1514B5 ⁺	90.5±7.1(28)	74.73±5.1(70)	36.0±11.5(19)	—
SW1514B5 ⁻	86.0±5.6(141)	81.00±1.9(133)	56.9±10.0*** (108)	—
SW1514B7 ⁺	89.4±10.6 (3)	71.50±4.5(80)	19.2±20.1(1)	—
SW1514B7 ⁻	87.2±3.3 (166)	84.20±2.1**(123)	73.8±3.8**(126)	—
SW552B1 ⁺	55.0±21.3(41)	73.80±9.5 (48)	72.5±17.7(14)	66.5±8.1(12)
SW552B1 ⁻	61.1±15.1(98)	71.60±7.7 (185)	66.5±13.9(107)	96.5±6.7**(62)
SW552B6 ⁺	—	57.20±12.1(4)	—	—
SW552B6 ⁻	—	88.20±6.3**(229)	—	—
SW2185B1 ⁺	—	30.50±20.6(1)	—	87.6±30.5 (5)
SW2185B1 ⁻	—	89.30±5.7**(210)	—	92.8±13.8 (69)

"+" means with such an allele; "-" means without such an allele.

"—" means not found.

(#) means number of litters analyzed.

** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$.

表 6. SW373 標記重複區序列組成

Table 6. The dinucleotide repeat patterns of SW373 alleles

Allele of SW373	Size (bp)	Dinucleotide repeat pattern	The length of repeat region (bp)
B1	150	(TG) ₆ AG(TG) ₄ AG(TG) ₉ AGTGAG	48
B2	154	(TG) ₇ AG(TG) ₁₇ AG	52
B3	158	(TG) ₇ AG(TG) ₃ AG(TG) ₁₅ AG	56
B4	160	(TG) ₆ AG(TG) ₄ AG(TG) ₄ AG(TG) ₉ AGTGAG	58
B5	162	(TG) ₁₀ AG(TG) ₁₆ AGTGAG	62
B7	166	(TG) ₇ AG(TG) ₂₃ AG	64
B8	168	(TG) ₇ AG(TG) ₂₄ AG	66

表 7. SW780 標記重複區序列組成

Table 7. The nucleotide repeat patterns of SW780 alleles

Allele of SW780	Size (bp)	Nucleotide repeat pattern	The length of repeat region (bp)
B1	116	(TGTC) ₅ (TC) ₆ (AC) ₁₄	50
B2	120	(TGTC) ₅ (TC) ₆ (AC) ₁₁	54
B3	122	(TGTC) ₅ (TC) ₆ (AC) ₁₂	56
B4	124	(TGTC) ₅ (TC) ₈ (AC) ₁₁	58
B5	126	(TGTC) ₅ (TC) ₆ (AC) ₁₄	60
B6	128	(TGTC) ₆ (TC) ₈ (AC) ₁₁	62
B9	132	(TGTC) ₅ (TC) ₆ (AC) ₁₇	66

所定序之 DNA 序列資料以 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 進行與 GenBank 資料庫 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 比對, SW373 和 SW780 與登錄號碼為 AF225095 和 AF235365 除重複區域外其他區皆相同, Rohrer *et al.* (2000) 僅將這兩個標記的其中之一交替基因序列登錄於 GenBank 中, 並未將相關的交替基因序列完整登錄。本報告提出這兩個標記之交替基因與豬隻繁殖性能有所關聯, 並將序列登錄之。

本研究分析豬隻第一號染色體上可能與母豬產仔性能顯著相關的遺傳標記, 並可區別有利與不利於不同品種母豬產仔性狀之交替基因, 未來應進一步擴大篩檢種母豬族群, 以俾能正確評估相關遺傳標記的效應, 達到基因化早期選育的目的, 進而提升產業競爭力。

誌謝

本研究承蒙本組育種場、電腦室及實驗室同仁的協助始克其功, 在此謹致謝忱。

參考文獻

- 張秀鑾、倪靜華、林德育、高瑞娟、賴永裕、吳明哲。1995。豬基選：V.母豬第一對染色體上 SW373 遺傳型及初產仔豬數。中畜會誌 24（增刊）：122。
- 廖仁寶、張秀鑾、賴永裕、劉錦條、吳明哲。1999。母豬造骨蛋白遺傳型對新生仔豬存活率之影響。中畜會誌 28(1)：33-39。
- Akai, J, A. Kimura and R. I. Hata. 1999. Transcriptional regulation of the human type I collagen alpha2 (COL1A2) gene by the combination of two dinucleotide repeats. *Gene* 239(1): 65-73.
- Baker, J. S., S. S. Moore, D. J. Hetzel, D. Evans, S. G. Tan and K. Byrne. 1997. Genetic diversity of Asian water buffalo (*Bubalus bubalis*): Microsatellite variation and a comparison with protein-coding loci. *Anim. Genet.* 28(2)：103-115.
- Cheng, H. H. 1997. Mapping the chicken genome. *Poultry Sci.* 76: 1101-1107.
- Dodgson, J. B., H. H. Cheng and R. Okimoto. 1997. DNA marker technology: A revolution in animal genetics. *Poultry Sci.* 76: 1108-1114.
- Liu, L., K. Dybvig, V. S. Panangala, V. L. van Santen and C. T. French. 2000a. GAA trinucleotide repeat region regulates M9/pMGA gene expression in *Mycoplasma gallisepticum*. *Infect. Immun.* 68(2)：871-876.
- Liu, X. W., Y. Katagiri, H. Jiang, L. J. Gong, L. Y. Guo, M. Shibutani, A. C. Johnson and G. Guroff. 2000b. Cloning and characterization of the promoter region of the rat epidermal growth factor receptor gene and its transcriptional regulation by nerve growth factor in PC12 cells. *J. Biol. Chem.* 275(10)：7280-7288.
- Luikart, G., M. P. Biju-Duval, O. Ertugrul, Y. Zagdsuren, C. Maudet and P. Taberlet. 1999. Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*). *Anim. Genet.* 30: 431-438.
- Rathje, T. A., G. A. Rohrer and R. K. Johnson. 1996. Quantitative trait loci affecting reproductive traits in swine. *J. Anim. Sci.* 74 (Suppl. 1): 122 (Abstr.).
- Rathje, T. A., G. A. Rohrer and R. K. Johnson. 1997. Evidence for quantitative loci affecting ovulation rate in pigs. *J. Anim. Sci.* 75: 1486-1494.
- Rohrer, G. A., L. J. Alexander, J. W. Keele, T. P. Smith and C. W. Beattie. 2000. *Sus scrofa* chromosome 1 clone SW373 map flpter .78-.83, sequence tagged site. Direct Submission. AF225095. GenBank.
- Rohrer, G. A., L. J. Alexander, J. W. Keele, T. P. Smith and C. W. Beattie. 2000. *Sus scrofa* chromosome 1 clone SW780, sequence tagged site. Direct Submission. AF235365. GenBank.
- Rothschild, M. F., C. Jacobson, D. A. Vaske, C. K. Tuggle, T. H. Short, S. Sasaki, G. R. Eckardt and D. G. McLaren. 1994. A major gene for litter size in pigs. *Proc. 5th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.* 21: 225-228.
- Rothschild, M. F., C. Jacobson, D. Vaske, C. Tuggle, L. Wang, T. Short, G. Eckardt, S. Sasaki, A. Vincent, D. McLaren, O. Southwood, H. van der Steen, A. Mileham and G. Plastow. 1996. The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 201-205.
- Rothschild, M. F., L. A. Messer and A. Vincent. 1997. Molecular approaches to improved pig fertility. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 52: 227-36.

- Rothschild, M. F., R. G. Larson, C. D. Jacobson and P. Pearson. 1991. PvuII polymorphisms at the porcine estrogen receptor locus (ESR). *Anim. Genet.* 22: 448.
- Saitbekova, N., C. Gaillard, G. Obexer-Ruff and G. Dolf. 1999. Genetic diversity in Swiss Goat breeds based on microsatellite analysis. *Anim. Genet.* 30: 36-41.
- Shimajiri, S. N. Arima, A. Tanimoto, Y. Murata, T. Hamada, K. Y. Wang and Y. Sasaguri. 1999. Shortened microsatellite d (CA) 21 sequence down-regulates promoter activity of matrix metalloproteinase 9 gene. *FEBS Lett.* 455(1-2) : 70-74.
- Short, T. H., G. R. Eckardt, S. Sasaki, M. Rose, A. Vincent, D. G. McLaren, A. J. Mileham and G. S. Plastow. 1995. Marker assisted selection for litter size in pigs. *J. Anim. Sci.* 73 (Suppl. 1) : 109 (Abstr.).
- Short, T. H., M. F. Rothschild, O. I. Southwood, D. G. McLaren, A. DeVries, H. van der Steen, G. R. Eckardt, C. K. Tuggle, J. Helm, D. A. Vaske, A. J. Mileham and G. S. Plastow. 1997a. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines. *J. Anim. Sci.* 75(12) : 3138-3142.
- Short, T. H., O. I. Southwood, D. G. McLaren, A. DeVries, H. van der Steen, G. J. Evans, A. J. Mileham and G. S. Plastow. 1997b. Evidence of a new genetic marker for litter size in pigs. *J. Anim. Sci.* 75 (Suppl. 1) : 29(Abstr.).
- Smeets, H. J. M., H. G. Brunner, H. H. Ropers and B. Wieringa. 1989. Use of variable simple sequence motifs as genetic markers: Application to study of myotonic dystrophy. *Hum. Genet.* 83: 245-251.
- Tautz, D. and C. Schlotterer. 1994. Simple sequences. *Curr. Opin. Genet.* 4(6) : 832-837.
- Van Hooft, W. F., O. Hanotte, P. W. Wenink, A. F. Groen, Y. Sugimoto, H. H. T. Prins and A. Teale. 1999. Applicability of bovine microsatellite markers for population genetic studies on African buffalo (*Syncerus caffer*). *Anim. Genet.* 30: 214-220.
- Vincent, A., L. Wang, C. K. Tuggle, M. Yerle and M. F. Rothschild. 1998. Linkage and physical mapping of prolactin to porcine chromosome 7. *Anim. Genet.* 29: 27-29.
- Warner, C. M. and M. F. Rothschild. 1991. The major histocompatibility complex of the pig. In: R. Srivastave, B. P. Ram and P. Tyle (Ed.) *Immunogenetics of the MHC*. pp. 368-397. VCH Publishers, New York. USA.
- Wilkie, P. J., A. A. Paszek, G. H. Flickinger, G. A. Rohrer, L. J. Alexander, C. W. Beattie and L. B. Schook. 1996. Scan of 8 porcine chromosomes for growth, carcass and reproductive traits. *Anim. Genet.* 27 (Suppl. 2) : 117-118.

Comparison of the litter performance of parous sows in aspects of allele frequencies and sequences of microsatellite markers on swine chromosome 1 ⁽¹⁾

Ren-Bao Liaw ⁽²⁾, Yu-Chia Huang ⁽²⁾, Yung-Yu Lai ⁽²⁾, Neim-Tsu Yen ⁽²⁾, Ming-Che Wu ⁽²⁾ and Hsiu-Luan Chang ^{(3) (4)}

Received : Jan. 2, 2006 ; Accepted : Feb. 22, 2006

Abstract

A total of eight microsatellite markers on swine chromosome 1 (SSC1) were used to genotype 157 parous sows. These markers including SW1514, SW552, SW2185, SW1301, SW373, SW780, S0316 and SW2130 spanned about 140 cM on the linkage map of SSC1. Three traits including the litter size at birth, the litter size born alive and the survival rate of piglets were analyzed. The genotyping analysis indicated that the allele frequency of every marker differed among four breeds. When we further analyzed the litter performance of sows with different alleles by the least-square method, it was shown that the number of total piglets born from Duroc sows with SW1301B3 allele were significantly higher than those without such an allele, and so did SW1301B1 allele. For Landrace sows with SW373B5 allele and Duroc sows with SW1514B3 allele, the number of born alive piglets were significantly higher than that without such an allele. In the same way, the trait of litter performance of different breed sows with some alleles was be inferior to those without such alleles. Besides, after sequencing and analyzing the allele sequences of SW373 and SW780 from five pigs, the results indicated that the tandem repeat region of SW373 was composed of different number of TG repeats and that the patterns consisted of four kinds, including $(TG)_pAG(TG)_q$, $(TG)_pAG(TG)_qAG(TG)_rAG$, $(TG)_pAG(TG)_qAG(TG)_rAGTGAG$, and $(TG)_pAG(TG)_qG(TG)_rAG(TG)_sAGTGAG$. However, the tandem repeat region of SW780 was composed of different number of two kinds of di-nucleotide repeats and one kind of tetra-nucleotide repeat, and the patterns consisted of $(GT)_x(GA)_y(GACA)_z$. Therefore, the nucleotide repeat pattern in variant region of each allele might be rather complicated.

Key words: Microsatellite marker, Allele, Litter performance.

(1) Contribution No. 1313 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Breeding and Genetic Division, COA-LRI, Hsinhua, Tainan, Taiwan 71246, R. O. C.

(3) Department of Animal Science, National Pingtung University of Science & Technology, Pingtung, Taiwan 91201, R. O. C.

(4) Corresponding author, E-mail: hlachang@mail.npust.edu.tw