

## 豬肋骨對數基因之定位<sup>(1)</sup>

廖仁寶<sup>(2)</sup> 張秀鑾<sup>(3)</sup> 賴永裕<sup>(2)</sup> 劉錦條<sup>(2)</sup>  
顏念慈<sup>(2)</sup> 劉振發<sup>(4)</sup> 吳明哲<sup>(2)(5)</sup>

收件日期：95年2月23日；接受日期：95年4月24日

### 摘要

屠體長是豬種改良重要經濟性狀之一，且其與肋骨對數具有相當程度的正相關，因此，本研究利用肉豬屠體肋骨數最多與最少之肌肉樣品進行基因定位。應用分布於第一號染色體（11種）、第二號染色體（1種）、第六號染色體（1種）、第七號染色體（8種）、第8號染色體（2種）、第10號染色體（1種）及第17號染色體（1種）等25種遺傳標記，檢測肉豬屠體為14對或17對肋骨數的肌肉樣本。經卡方分析顯示：肋骨對數與第一號染色體上的SW1824、SW1514、S0316及ESR和第七號染色體上的SW1122、SW252、SW1380及S0115有顯著的相關性，推測第一號染色體短臂的1p2.4-2.5與第七號染色體長臂的7q2.4-2.5區域可能含有控制肋骨對數的基因座。此外，藍瑞斯與盤克夏正反雜交豬後代具14對和17對肋骨數的豬隻頻率最低（<5%），具16對者則佔最多數（54.6%）。左右側肋骨數不等的情形，其發生比率為4.6%（6/130），故肋骨對數可能非單一基因座所控制。

關鍵詞：豬、肋骨對數、微衛星型標記。

### 緒言

豬的脊椎分為頸椎、胸椎、腰椎、薦椎和尾椎，而肋骨對數則取決於胸椎數。依Shaw（1930）、Freeman（1939）和Berge（1948）之研究報告指出，豬頸椎數一般約為7個，而胸椎數則為13至17個不等，至於腰椎數則為6或7個。Berge在挪威農業大學進行為期八年的豬隻脊椎數目（僅包括頸椎、胸椎與腰椎）調查與選拔試驗，結果顯示：脊椎數目為決定屠體長之一重要因素，且經八年的選拔，平均增加0.88個脊椎。脊椎數目與肋骨數之相關係數估值為0.782，而直接由親子迴歸所佔得之遺傳變異率則高達0.743。此外，腰椎數目係隨著肋骨數遞增而遞減。本所曾於1996年間，逢機調查冷凍加工廠屠宰之豬隻屠體肋骨數。結果顯示：肋骨數具品種差異（張等，1997），此與Shaw

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第1317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) 行政院農業委員會畜產試驗所生理組。

(5) 通訊作者，E-mail: mcwu@mail.tlri.gov.tw。

(1930) 之研究結果一致；且具較多肋骨數之屠體（具16對或17對者）頻率隨屠體長之增長而增加；換言之，肋骨對數愈多者，其屠體長亦較長。劉等（1996）調查台灣肉豬屠體重與屠體長整齊度時，發現台灣肉豬屠體平均長度較美國肉豬屠體長還長（Gu *et al.*, 1992）。

由於新興分子生物技術的快速發展，已建立了記載豬染色體上各類基因的相關位置圖—基因圖譜（Archibald *et al.*, 1995）。美國農業部研究單位亦發展出微衛星型（microsatellite）遺傳標記圖譜，進而估計豬應有 1,997 分摩根（centimorgan, CM）單位長的基因圖譜（Rohrer *et al.*, 1994）。目前所建立的豬基因圖譜，大約含有 2,500 個遺傳標記，散布在各號染色體上，基因圖譜愈詳細，應用性也愈高。因此，可藉基因圖譜以探尋數量性狀基因座（quantitative trait loci, QTL）或俗稱經濟性狀基因座（economic trait loci, ETL），如控制繁殖性能和屠體性狀的基因或相關的遺傳標記。Hisamatsu *et al.*（1999）、Wada *et al.*（2000）、Yasue（2000）及 Mikawa *et al.*（2004, 2005）應用遺傳標記篩檢參考族群，找到與脊椎數相關的 QTL。

屠體長是豬種改良重要經濟性狀之一，且其與肋骨對數具有相當程度的正相關，故如欲改善屠體長與增加高價部位屠體，豬隻肋骨對數之遺傳控制及其基因所在位置之探討，有助於建立豬種改良的基因化技術。因此，本研究採用肉豬屠體肋骨對數最多或最少個體，進行肌肉樣品的遺傳標記檢測與連鎖分析策略，以定位可能與肋骨對數有顯著相關的標記，並期利用此標記做為基因選種的候選標的。

## 材料與方法

### I. 肉豬屠體具 14 對與 17 對肋骨數之肌肉採樣

自電宰廠的冷卻肉豬屠體取得 73 頭肌肉樣材，其中肋骨數為 14 對者有 39 頭，肋骨數為 17 對者有 34 頭。肌肉樣材取自屠體剖半後之內側軀幹，約 1-2 立方公分，供萃取其 DNA，以做為分析之用。

### II. DNA 之萃取

取約 0.5 立方公分肌肉，將其剪碎或切碎，加入 0.54 ml BD-3（BDtract, Maxim Biotech INC., San Francisco, CA, USA）溶液，加入 5  $\mu$ l proteinase K（20 mg/ml），於 55  $^{\circ}$ C 水浴作用至隔夜。冷卻至室溫後，加入 10  $\mu$ l RNaseA，於 37  $^{\circ}$ C 下作用 30 min。置於冰上 5 min，加入 0.18 ml BD-4 溶液，混勻。離心 10 min，收集上清液至新離心管。加入 0.6 ml 酚：氯仿（1:1）溶液，混勻後離心 10 min，吸取上層液至新離心管，加入 0.6 ml 氯仿，混勻後離心 5 min。小心吸取上層液至新離心管，加入 0.6 ml 絕對酒精，輕輕上下混勻。離心 10 min，倒掉上清液。以 1 ml 冰冷的 70 % 酒精洗鹽。離心 5 min，倒掉上清液後，風乾。最後加入 0.5 ml TE（10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0）緩衝液，於 65  $^{\circ}$ C 下，溶解 30 min。

### III. 遺傳標記之鑑別

應用第一號、第二號、第七號、第八號、第十號及第十七號染色體上已知位置之微衛星型遺傳標記引子（表 1），進行聚合酶連鎖反應（polymerase chain reaction, PCR）以鑑別樣本之基因型。以標幟螢光物之正向與未標幟之反向引子對，進行 PCR，反應總體積為 10  $\mu$ l，其組成份有 20-25 ng 模板 DNA、0.4 mM dNTP、0.25  $\mu$ M 每個引子、10 mM Tris-HCl、1.5 mM MgCl<sub>2</sub>、50 mM KCl 和 1U（單位）Taq 聚合酶。反應條件第一步變性：94  $^{\circ}$ C、5 min；第二步循環增幅 35 次：94  $^{\circ}$ C、

30 s, 60 °C、30 s, 72 °C、30 s；第三步延長：72 °C、10 min，其中黏合溫度視各引子對而調整。取 1  $\mu$  l 適當稀釋後之 PCR 產物與 0.5  $\mu$  l 的 350 bp 標準品、0.5  $\mu$  l 載入緩衝液及 3  $\mu$  l 去離子甲醯胺混合均勻，於 90 °C 下變性 2 分鐘後，立即置於冰上備用。於核苷酸自動定序儀載入 1.5  $\mu$  l 各混合樣本並電泳兩小時後，以 GeneScan (version 3.1.2) 與 Genotyper (version 2.5) 軟體 (Applied Biosystems, Foster City, USA) 分析 DNA 片段之長度。

表 1. 本研究所使用之豬微衛星型遺傳標記

Table 1. Microsatellite markers of the porcine genomes used in the study

Location on chromosome	Genetic marker	Relative position (cM)	Annealing temperature
1p	SW1514	0.0	55
1p	SW1824	3.0	60
1p	SW552	9.1	60
1p	SW1515	16.4	60
1p	S0316	33.4	62
1p	SW2130	49.4	60
1q	SW780	81.0	62
1q	SW1301	140.5	58
1q	SW373	119.5	55
1q	SW705	122.6	62
1q	ESR	19.0	67
2q	SWR345	114.4	55
6q	Hal-1843	75.3	69
7p	SW2564	0.0	58
7p	SW472	58.9	58
7q	SW1122	82.3	62
7q	SW147	90.1	58
7q	SW252	99.4	62
7q	S0115	102.2	60
7q	SW764	156.0	60
7q	SW1380	156.6	55
8p	SW2410	-1.3	55
8q	OPN	120.2	60
10q	SW2067	128.0	55
17	SW335	0.0	55

#### IV. 肋骨數之品種差異

計調查 194 頭生長檢定完檢豬之屠體性狀，包括 27 頭藍瑞斯、30 頭約克夏、14 頭杜洛克與 123 頭盤克夏。

#### V. 雜交豬左右側肋骨數調查

調查 130 頭雜交豬之屠體性狀，包括由盤克夏 (B) 與藍瑞斯 (L) 進行雜交產生的 BL 及 LB 雜交豬一代 (F1)，與由 F1 自交以生產雜交豬二代 (F2)，其中 BL 5 頭、LB 23 頭、BLBL 67 頭及 LBLB 35 頭，記錄左右側肋骨數。

## 結果與討論

#### I. 肋骨對數基因所在染色體

由遺傳標記交替基因與肋骨數之卡方分析得知，肋骨數與豬第一號染色體短臂 (1q) 上的遺傳標記第一號染色體末端端節區域的 SW1514 交替基因 161 bp ( $P = 0.023$ ) 和 SW1824 交替基因 91 bp ( $P = 0.009$ )，與其他區域的 ESR 的 B 交替基因 ( $P = 0.036$ ) 與 S0316 之交替基因 127 bp ( $P = 0.042$ ) 和 144 bp ( $P = 0.031$ ) 有顯著的相關，亦與第七號染色體長臂上的遺傳標記 SW1122 之交替基因 120 bp ( $P = 0.017$ )、SW252 之交替基因 161 bp ( $P = 0.007$ )、171 bp ( $P = 0.001$ )、173 bp ( $P = 0.002$ ) 和 183 bp ( $P = 0.001$ )、S0115 之交替基因 200 bp ( $P = 0.001$ )、206 bp ( $P = 0.007$ ) 和 208 bp ( $P = 0.001$ ) 及末端端節區域 SW1380 之交替基因 171 bp ( $P = 0.002$ ) 有顯著的

表 2. 肋骨數基因座與遺傳標記之相關性卡方檢測值

Table 2. Chi-square test for association between genetic markers and rib number loci

Location on chromosome	Genetic marker	Allele	Chi-squared value (Significance level)
1p	SW1514	161 bp	5.189 ( $P=0.023$ )
1p	SW1824	91 bp	6.750 ( $P=0.009$ )
1p	ESR	B	4.402 ( $P=0.036$ )
1p	S0316	127 bp	4.142 ( $P=0.042$ )
		144 bp	4.644 ( $P=0.031$ )
7q	SW1122	120 bp	5.694 ( $P=0.017$ )
7q	SW147	216 bp	1.340 ( $P=0.247$ )
		161 bp	7.314 ( $P=0.007$ )
7q	SW252	171 bp	10.791 ( $P=0.001$ )
		173 bp	9.750 ( $P=0.002$ )
		183 bp	19.320 ( $P=0.001$ )
		200 bp	14.912 ( $P=0.001$ )
7q	S0115	206 bp	7.326 ( $P=0.007$ )
		208 bp	13.555 ( $P=0.001$ )
7q	SW1380	171 bp	9.348 ( $P=0.002$ )

相關 (表 2)。遺傳標記 SW252 和 S0115 與肋骨數的相關性較顯著，而 SW252 與 S0115 之相對位置僅相差 2.8 cM (表 2)，其長度約為  $2.8 \times 10^6$  bp，因此，在第七號染色體的相對位置 99.4 cM 和 102.2 cM 間，極可能含有與肋骨數相關的基因。以上的研究結果更可與日本的研究團隊以篩檢參考族群的研究結果不謀而合，尤其是 Mikawa *et al.* (2005) 亦發現與脊椎數顯著相關的遺傳標記同樣為 SW1122、SW252、S0115，但尚有一些在相同染色體 (第一號與第七號) 而不同的其他遺傳標記。

## II. 肋骨數品種差異與對稱性

在檢定豬屠體性狀的單邊肋骨數調查結果 (表 3)，藍瑞斯種的肋骨數為 15 或 16 者佔最多數各約 45% 上下，而 14 或 17 者則各約佔 5% 以下；約克夏種與杜洛克種肋骨數的分布相當，佔最多數的為 15 者約 75% 左右，14 者為 10% 或以下，16 者約為 15%；盤克夏種肋骨數的分布，15 者約 60% 左右，14 者約為 25%，16 者約為 15%。整體而言，肋骨數的分布以 15 者最多，其次為 16 者與 14 者，分布頻率最少者為 17 者。

表 3. 豬左側肋骨數

Table 3. Number of ribs in left side of pigs

No. of ribs in left side	Breed								Total	
	Landrace		Yorkshire		Duroc		Berkshire			
					Head ( % )					
14	1	(3.7)	3	(10.0)	1	(7.1)	31	(25.2)	36	(18.6)
15	12	(44.4)	22	(73.3)	11	(78.6)	73	(59.3)	118	(60.8)
16	13	(48.1)	5	(16.7)	2	(14.3)	19	(15.4)	39	(20.1)
17	1	(3.7)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(0.5)
Total	27	(13.9)	30	(15.5)	14	(7.2)	123	(63.4)	194	(100.0)

針對兩品種藍瑞斯與盤克夏之雜交豬的屠體性狀調查，進行左右側肋骨數的測量後，除雜交一代 BL 外，其餘的雜交豬均有左右側肋骨數不等的現象 (表 4)。在雜交豬一代中，左右側肋骨數為 16/16 型者佔大多數為 53.6%，14/14 型者僅佔 3.6%。而在雜交二代 BLBL 中，左右側肋骨數為 16/16 型者佔大多數，然肋骨數 17/17 型者之豬隻僅有三頭，尚有三頭左右側肋骨數不等的豬隻 (15/16 型者一頭與 17/16 型者兩頭)。雜交二代 LBLB 之左右側肋骨數佔大多數的亦為 16/16 型者，但發現兩頭豬左右側肋骨數不等 (15/16 與 17/16 型者各一頭) 的現象，同時在雜交豬二代中並無發現具有 14/14 型者，因此，參考族群必須加以擴大，才能獲得足夠的資料以進行肋骨數基因細部定位。

## III. 肋骨對數基因之定位

由研究極端肋骨數的豬隻樣本可得知與肋骨數相關的染色體區域有多個 (表 2)，再根據美國農部研究單位所建構的豬基因原位圖譜與連鎖圖譜 (<http://www.marc.usda.gov/genome/swine/swine>).

html)，得知這些標記分別位於第一號和第七號染色體的端節區域 1p2.4-2.5 和 7q2.4-2.5。若欲進行豬隻肋骨數基因細部定位及定序則需建立參考族群，而參考族群的大小和背景及能獲得的遺傳資料對細部基因定位的結果有極大的影響。在另一方面，則可持續利用更大量的遺傳標記（每隔 1 CM 就選用一個標記）篩檢極端肋骨數樣品，獲得更多與肋骨數顯著相關的標記，以供進一步研究影響肋骨數生成機制的探討或當作標記輔助選拔的標的。

表 4. 藍瑞斯與盤克夏品種雜交豬左右側肋骨數型式

Table 4. Number of ribs in left and right sides of hybrid pigs between Landrace and Berkshire breeds

Pattern of rib no. (Left /Right)	F1				F2				Total	
	BL		LB		BLBL		LBLB			
	Head ( % )									
14/14	0	(0)	1	(4.3)	0	(0)	0	0	1	(0.8)
15/15	0	(0)	11	(47.8)	27	(40.3)	11	(31.4)	49	(37.7)
16/16	5	(100.0)	10	(43.5)	34	(50.7)	22	(62.9)	71	(54.6)
17/17	0	(0)	0	(0)	3	(4.5)	0	(0)	3	(2.3)
15/16	0	(0)	1	(4.3)	1	(1.5)	1	(2.9)	3	(2.3)
17/16	0	(0)	0	(0)	2	(3.0)	1	(2.9)	3	(2.3)
Total	5	(3.9)	23	(17.1)	67	(51.9)	35	(27.1)	130	(100.0)

## 誌謝

本研究承本組育種場、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、吳明哲、吳松鎮、劉錦條、賴永裕。1997。豬隻屠體長與肋骨數之探討。中畜會誌 26(4)：409-418。
- 劉錦條、吳明哲、張秀鑾。1996。台灣肉豬屠體重與屠體長之整齊度。畜產研究 29(2)：105-114。
- Archibald, A. L., C. S. Haley and J. F. Brown. 1995. The pig map consortium linkage map of the pig (*Sus scrofa*). *Mammalian Genome* 6: 157-175.
- Berge, S. 1948. Genetical researches on the number of vertebrae in the pig. *J. Anim. Sci.* 7: 233-238.
- Freeman, V. A. 1939. Variations in the number of vertebrae of swine. *J. Hered.* 30: 61.
- Gu, Y., A. P. Schinckel and T. G. Martin. 1992. Growth, development, and carcass composition in five genotypes of swine. *J. Anim. Sci.* 70: 1719-1729.

- Hisamatsu, N., M. Mayake, H. Kusumoto, J. Murofushi, T. Karawasaki, A. Horuchi, Y. Wada, S. Mikawa, E. Kobayashi, M. Minezawa and H. Yasue. 1999. A quantitative trait locus affecting the number of vertebrae on swine chromosome 1. Proceeding of seventh Conference on Plant and Animal Genome, Jan. 17-21, 1999. San Diego, CA. USA. <http://www.intl-pag.org/pag/7/abstracts/pag7188.html>
- Mikawa S., T. Hayashi, M. Nii, S. Shimanuki, T. Morozumi and T. Awata. 2005. Two quantitative trait loci on *Sus scrofa* chromosomes 1 and 7 affecting the number of vertebrae. *J. Anim. Sci.* 83(10) : 2247-2254.
- Mikawa S., S. Shimanuki, T. Morozumi, M. Domukai, H. Shinkai, Y. Uchida, A. Mikawa, M. Miyake, Y. Miyake, N. Hayashi, H. Kusumoto, H. Uenishi, T. Hayashi and T. Awata. 2004. Comparative analysis and development of microsatellite markers on swine (*Sus scrofa*) chromosome 1qter. *Anim. Genet.* 35(6) : 445-450.
- Rohrer, G. A., L. J. Alexander, J. W. Keele, T. P. Smith and C. W. Beattie. 1994. A microsatellite linkage map of the porcine genome. *Genetics* 136: 231-245.
- Shaw, A. M. 1930. A method of determining the variations in the vertebral column of the live pig. *Sci. Agric.* 10: 690-695.
- Wada, Y, T. Akita, T. Awata, T. Furukawa, N. Sugai, Y. Inage, K. Ishii, Y. Ito, E. Kobayashi, H. Kusumoto, T. Matsumoto, S. Mikawa, M. Miyake, A. Murase, S. Shimanuki, T. Sugiyama, Y. Uchida, S. Yanai and H. Yasue. 2000. Quantitative trait loci (QTL) analysis in a Meishan Göttingen cross population. *Anim. Genet.* 31: 376-384
- Yasue, H. 2000. QTL analysis and allele segregation distortion in swine resource families. Proceeding of eighth Conference on Plant and Animal Genome, San Diego, CA, January 9-12, 2000. San Diego, CA. USA. <http://www.intl-pag.org/pag/8/abstracts/pag8640.html>

# Gene mapping for porcine rib-pair number loci <sup>(1)</sup>

Ren-Bao Liaw <sup>(2)</sup>, Hsiu-Luan Chang <sup>(3)</sup>, Yung-Yu Lai <sup>(2)</sup>, Chin-Tau Liu <sup>(2)</sup>, Neim-Tsu Yen <sup>(2)</sup>, Jenn-Fa Liu <sup>(4)</sup> and Ming-Che Wu <sup>(2)</sup> <sup>(5)</sup>

Received : Feb. 23, 2006 ; Accepted : April. 24, 2006

## Abstract

Carcass length is one of the important economic traits in swine breeding and has positive relationship to the number of ribs. Therefore, we used the hog samples with extreme number of ribs to map the relative genes in this study. A total of 25 porcine microsatellite markers located on chromosome 1 (11 markers), chromosome 2 (1 marker), chromosome 6 (1 marker), chromosome 7 (8 markers), chromosome 8 (2 markers), chromosome 10 (1 marker), and chromosome 17 (1 marker) were used to genotype muscle samples of hogs having 14 or 17 pairs of ribs. The results of chi-square test between markers and number of rib pairs indicated that number of rib pairs and markers SW1824, SW1514, S0316, ESR, and S0316 on chromosome 1 and SW1122, SW252, SW1380, and S0115 on chromosome 7 were significantly related, respectively. By this, there were probably gene loci for number of rib pairs on porcine chromosome 1p2.4-2.5 and 7q 2.4-2.5. In the investigation of carcass traits of hybrids F1 and F2, the frequencies of the pigs with 14 and 17 rib pairs were in a tiny minority (<5%), but those with 16 rib pairs were in the majority (54.6%). Besides, the asymmetry of left and right rib pairs were found in the study and the frequency was 4.6% (6/130). We concluded that the trait of number of rib pairs was probably regulated just by one single gene.

Key words: Swine, Number of rib pairs, Microsatellite marker.

---

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

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

(5) Corresponding author, E-mail: mcwu@mail.tlri.gov.tw