

# 乳牛第11凝血因子缺失症基因型頻率分析

廖仁寶<sup>(1)</sup> 陳若菁<sup>(1)</sup> 林秀蓮<sup>(1)</sup> 蔡新興<sup>(1)</sup> 黃金山<sup>(1)</sup> 楊德威<sup>(1)</sup> 蕭宗法<sup>(1)</sup> 陳水財<sup>(1)</sup> 陳志毅<sup>(1)</sup> 李國華<sup>(1)</sup>  
賈玉祥<sup>(1)</sup> 張秀鑾<sup>(2)</sup> 吳明哲<sup>(1)</sup>  
<sup>(1)</sup>行政院農業委員會畜產試驗所  
<sup>(2)</sup>國立屏東科技大學動物科學與畜產系

## Frequency of factor XI deficiency genotype of dairy cows

R. B. Liaw<sup>(1)</sup>, J. C. Chen<sup>(1)</sup>, H. L. Lin<sup>(1)</sup>, S. S. Tsay<sup>(1)</sup>, C. S. Huang<sup>(1)</sup>, D. W. Yang<sup>(1)</sup>, T. F. Shiao<sup>(1)</sup>, S. T. Chen<sup>(1)</sup>, J. Y. Chen<sup>(1)</sup>, K. H. Lee<sup>(1)</sup>, Y. S. Jea<sup>(1)</sup>, H. L. Chang<sup>(2)</sup> and M. C. Wu<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan

<sup>(2)</sup>Department of Animal Science, National Pingtung University of Science and Technology

The bovine factor XI deficiency (FXID) is a recessive genetic disorder caused by a 76-bp DNA fragment inserted to FXI exon 12 on bovine chromosome 27, resulting in a loss of protein function. In this study, 16, 92, 63, 112, 145 and 113 dairy cow blood samples were collected from six dairy farms, and the DNA was extracted and stored. After the FXID genotyping method and conditions were confirmed, and then 541 DNA samples were identified. The results showed that the genotypes of the three samples were carriers and the others were normal. The carrier frequency was 0.55% lower than those of Poland (2.9%), Turkey (1.8%) and the United States (1.2%). The three carrier cattle were from the same farm, and it is not a breeding farm. Although the FXID carrier frequency is very low, it still needs to closely monitor the imported frozen semen or live cattle and prevent this defective gene transmitting to cattle population continuously.

Key Words: Factor XI, Genetic defect, Genotype

## 緒言

乳牛第11凝血因子缺失症(FXID)為一種隱性遺傳疾病，此病症源於位在第27號染色體上的第11凝血因子基因exon 12插入了一個76-bp的DNA片段[AT(A)<sub>28</sub>TAAAG(A)<sub>26</sub>GGAAATAATAATTCA]，因而造成原有蛋白質功能喪失(Marron et al, 2004)。第11凝血因子為一種蛋白酶，可啟動凝血的一系列反應，有研究指出同合型或雜合型凝血因子缺失牛隻的產仔與存活率較低，同時亦比較容易感染傳染性疾病(Liptrap et al., 1995)，因此，此病症將造成酪農產業的損失。日本的研究追查系譜資料，該國缺失症雜合型公牛的源自USA Holstein 2247419A與14189172A (Ghanem and Nishibori, 2009)，然因缺乏DNA樣品而無法得知個體確切的基因型。本研究逢機篩選台灣乳牛場共541頭乳牛DNA樣品，發現雜合型的頻率為0.55%，且3頭乳牛來自同一乳牛場，雖頻率很低，但仍需監控以避免不良基因持續進入乳牛群，而影響整體酪農產業發展與收益。

## 材料與方法

(一)樣品採集：自6場乳牛場分別收集16、92、63、112、145及113頭乳牛血液樣品，並萃取其DNA後冷凍保存備用。

(二)PCR反應：參照Marron et al. (2004)研究，進行FXI基因型鑑別較佳條件測試。使用之引子對，分別為5'-CCCACTGGCTAGGAATCGTT-3'與5'-CAAGGCAATGTCATATCCAC-3'。PCR反應組成成分為50-150 ng模板DNA、2.5 nmol dNTP、5 pmol每個引子、1×反應緩衝液及0.5 U Taq聚合酶(TaKaRa)，反應總體積為15 μL。PCR反應條件為：第一步變性，94°C、5 min；第二步循環增幅35次，94°C、30 s，60°C、30 s，72°C、30 s；第三步延長，72°C、10 min。

(三)基因型判別：取5 μL PCR產物與1 μL載入染劑(loading dye)混合均勻後，進行1.5%瓊脂膠體電泳分析。電泳後，利用SYBR safe (Invitrogen)染色，並在紫外線燈箱上顯像，再以數位影像分析系統存取影像(AlphaImager System)。電泳圖片顯示，CD基因型的標的片段有244 bp與320 bp兩條泳帶；其中正常純合基因型牛隻僅具244bp片段，有病純合基因型者僅具320 bp片段，而雜合型個體則同時具244 bp與320bp兩個泳帶片段。

## 結果與討論

本研究自6場乳牛場分別收集16、92、63、112、145及113頭乳牛血樣，共計541個樣品，萃取其DNA後冷凍保存備用。FXID檢測方法與條件經確認後，再進行所有乳牛DNA樣品之基因檢測(圖1)，結果發現3個樣品基因型為雜合型，其餘皆為正常型，雜合型頻率為0.55%，低於波蘭(2.9%)、土耳其(1.8%)、美國(1.2%)及日本(1.0%)的研究報告(Gurgul et al., 2009; Meydan et al., 2010; Marron et al., 2004; Ghanem and Nishibori, 2009)。經追查，3頭FXID雜合型牛隻來自同一乳場，該場非為種牛場，因無法獲得其系譜資料，故無法再往上調查。

雖然FXID發現於荷蘭牛，仍有研究探討此病症在其他品種牛的發生率。Mondal et al. (2016)分析印度120頭公牛(*Bos indicus*: 61頭Sahiwal與38頭Gir；*Bos taurus*: 4頭Jersey與17頭雜交牛(*Bos indicus* X *Bos taurus*) FXI基因型，發現2頭Sahiwal公牛為雜合型。Kunieda et al. (2005)研究日本黑牛的FXI基因型，發現FXI基因由15個exons與14個introns組成，有病型的基因型為在第9個exon插入了15個核苷酸，使得正常型FXI的Phe由6個胺基酸(LeuTyrValGlnAsnIle)取代，並影響原有蛋白質的功能。

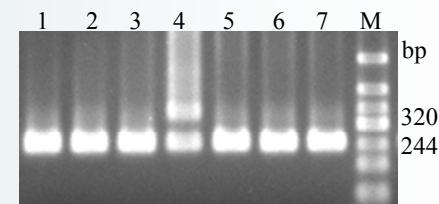


圖1.荷蘭牛FXI基因型檢測電泳圖。  
Lane 4樣品為雜合型，其餘為正常型，  
M為DNA大小標梯。

## 結論

雖然由現階段的基因檢測結果，發現荷蘭乳牛FXID雜合型頻率甚低，但仍有嚴密監控之必要，以防止此一不良基因經由進口冷凍精液或活體牛隻持續進入我國乳牛族群。