

即時聚合酶鏈鎖反應檢測土雞A-FABP基因Exon1點突變多態性之基因型分析

Genotypic Analysis of Single Nucleotide Polymorphism on Exon1 of A-FABP Gene in Indigenous Chicken by Real-time PCR platform

朱家德⁽¹⁾ 林德育⁽¹⁾ 賴永裕⁽¹⁾ 陳若菁⁽¹⁾ 吳明哲⁽¹⁾ 張秀鑾⁽²⁾

⁽¹⁾行政院農業委員會畜產試驗所 ⁽²⁾國立屏東科技大學

C. T. Chu⁽¹⁾, D. Y. Lin⁽¹⁾, Y. Y. Lai⁽¹⁾, J. C. Chen⁽¹⁾, M. C. Wu⁽¹⁾ and H. L. Chang⁽²⁾

⁽¹⁾Taiwan Livestock Research Institute ⁽²⁾National Pingtung University of Science and Technology

緒言

肌間脂肪含量 (Intramuscular Fat, IMF%) 為影響肌肉柔嫩度 (Tenderness)、多汁性 (Juiciness)、氣味 (Odor) 及風味 (Flavor) 的關鍵影響因子之一。Ye等人於2010年的研究文獻指出，脂肪細胞脂肪酸結合蛋白 (Adipocyte fatty acid binding protein, A-FABP) 點突變能顯著 ($P < 0.05$) 影響北京油雞公雞腿肉 (12.72 ± 0.25 v.s. 11.89 ± 0.18) 與雞胸 (3.70 ± 0.09 v.s. 3.47 ± 0.06) 肌間脂肪百分比含量。

材料與方法

本試驗以紅羽土雞、黑羽土雞及烏骨雞為樣本。運用螢光引子 (FAM/HEX-labelled Primer) 標記之即時聚合酶連鎖反應 (Real-time PCR) 基因型檢測技術，藉由兩股分別能辨識突變點鹼基引子，其引子5'末端各自帶有 FAM/HEX-labelled 標記之螢光，故在PCR擴增反應下，能藉由高度專一性的3'辨識單點突變及引子5'末端不同螢光標記在Real-time PCR儀器 (ABI StepOne) 吸光值探測上區分不同基因型。將不同基因型樣品進行序列片段定序分析確定核苷酸變異點，期建立藉雞A-FABP基因Exon1點突變基因型即時聚合酶連鎖反應基因型檢測平台。

結果與討論

運用即時聚合酶連鎖反應技術結果顯示，CC基因型者具FAM藍色螢光，CT雜合型基因型者同時具FAM/HEX呈現綠色螢光，而有TT基因型者則具HEX紅色螢光 (圖1)。經序列片段定序結果顯示，CC型第30-37之DNA序列為AAACTTC，TT型第30-37之DNA序列為AAACTTT (圖2)。分析90隻民間土雞場土雞A-FABP基因Exon1點突變之基因型 (表1)，初步結果顯示凱馨桂丁土雞CC型、CT型及TT型分別為70.0% (21/30)、30.0% (9/30)及0.0% (0/30)，黑羽土雞CC型、CT型及TT型分別為13.3% (4/30)、50.0% (15/30)及36.7% (11/30)及烏骨雞CC型、CT型及TT型頻率分別為73.4% (22/30)、23.3% (7/30)及3.3% (1/30)，後續須將A-FABP基因Exon1點突變之基因型與土雞雞胸肉與腿肉肌間脂肪含量 (IMF%) 進行統計分析，以確定此點突變是否能影響土雞之胸肉與腿肉肌間脂肪含量。

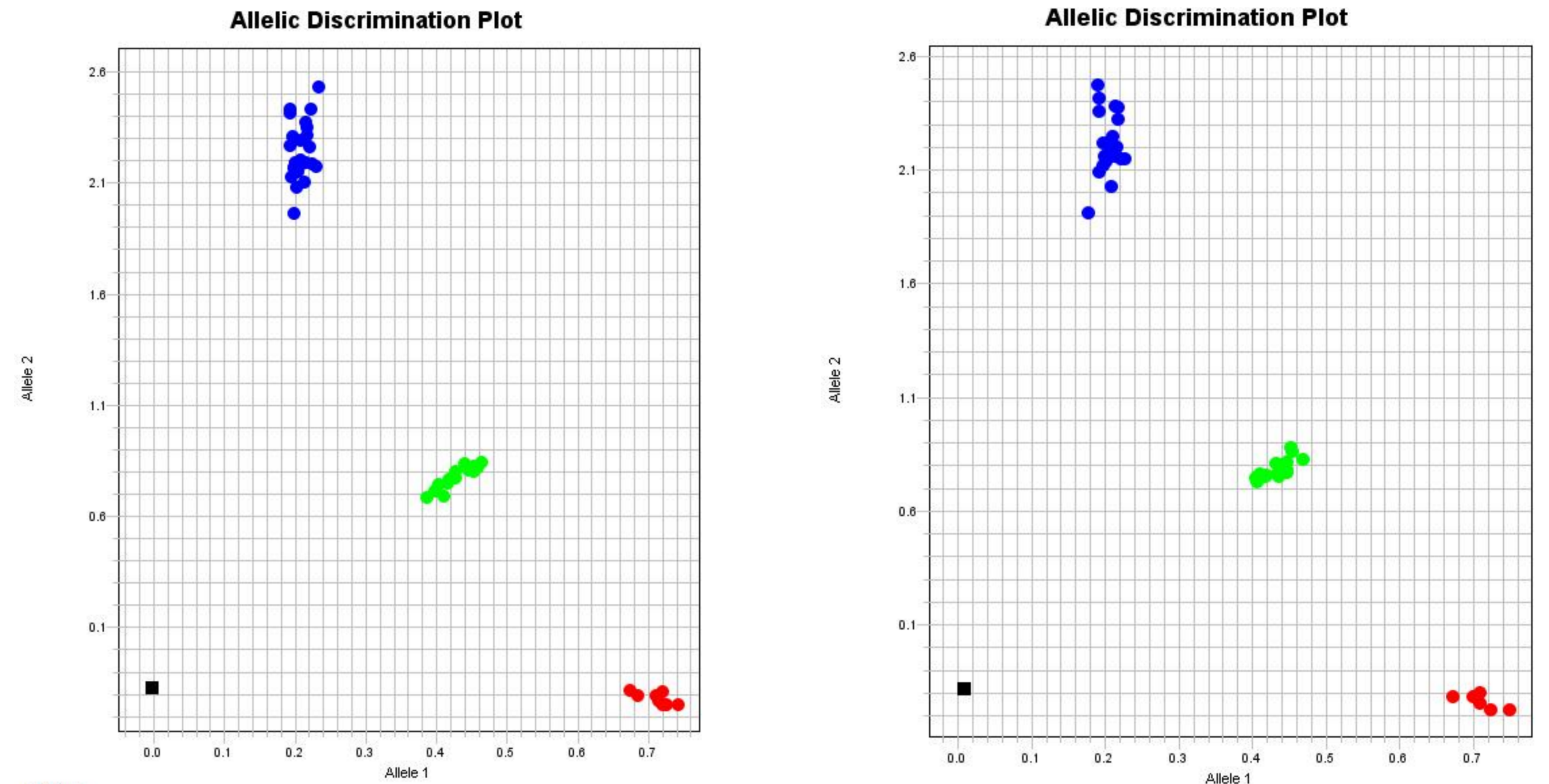


圖1. 運用即時聚合酶連鎖反應技術分析土雞A-FABP基因Exon1點突變之基因型分布圖。

藍色螢光點為CC基因型，綠色螢光點為CT(雜合型)基因型，紅色螢光點則為TT基因型。

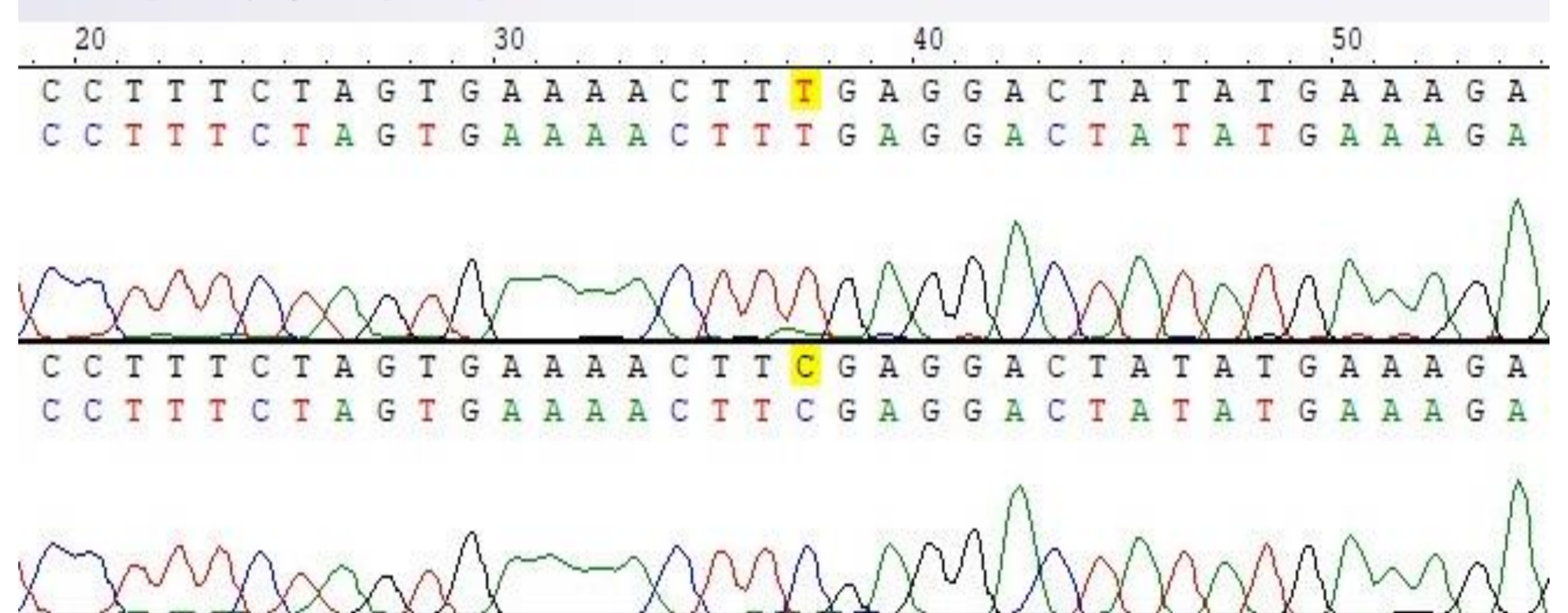


圖2. 運用ABI 3500xL定序儀分析土雞A-FABP基因Exon1點突變CC及TT型之結果。

表1 運用即時聚合酶連鎖反應技術分析民間土雞場A-FABP基因Exon1點突變之基因型分析

品種	樣本數	A-FABP 基因型		
		CC	CT	TT
凱馨桂丁	30	21	9	0
黑羽土雞	30	4	15	11
烏骨雞	30	22	7	1