

即時聚合酶鏈鎖反應檢測土雞H-FABP基因Intron2點突變多態性之基因型分析

Genotypic Analysis of Single Nucleotide Polymorphism on Intron2 of H-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。Wang 等人於 2007 的研究文獻指出，心臟型脂肪酸結合蛋白 (Heart-type fatty acid binding protein, H-FABP) 點突變能顯著 ($P < 0.05$) 影響封開杏花雞、惠陽鬍鬚雞、廣西霞烟雞、嶺南黃雞、清遠麻雞及侏儒雞等中國本土雞隻與愛拔益加商用肉雞品種雞胸 (3.141 ± 0.329 v.s. 2.065 ± 0.507) 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 H-FABP 基因 Intron2 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，TT 基因型者具 FAM 藍色螢光，TC 雜合型基因型者同時具 FAM/HEX 呈現綠色螢光，而有 CC 基因型者則具 HEX 紅色螢光 (圖 1)。經序列片段定序結果顯示，TT 型第 397-404 之 DNA 序列為 ATCCCTT，CC 型第 397-404 之 DNA 序列 ATCCCTC (圖 2)。分析 86 隻民間土雞場土雞 H-FABP 基因 Intron2 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 34.6% (9/26)、38.5% (10/26) 及 26.9% (7/26)，黑羽土雞 CC 型、CT 型及 TT 型分別為 6.6% (2/30)、53.4% (16/30) 及 40.0% (12/30) 及烏骨雞 CC 型、CT 型及 TT 型分別為 3.4% (1/30)、40.0% (12/30) 及 56.6% (17/30)，後續須將 H-FABP 基因 Intron2 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為影響土雞胸肉與腿肉肌間脂肪含量之主效基因。

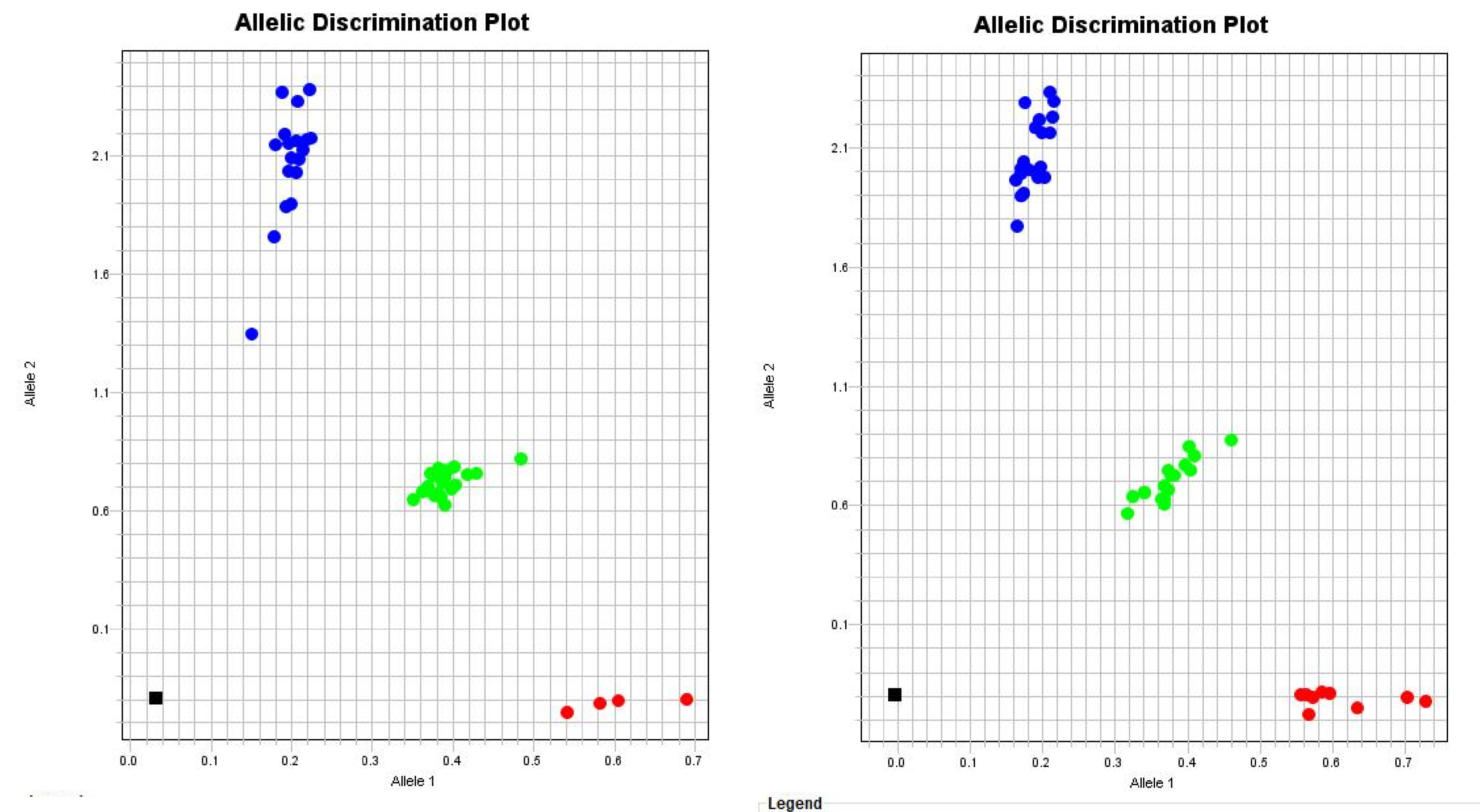


圖 1. 運用即時聚合酶連鎖反應技術分析土雞 H-FABP 基因 Intron2 點突變之基因型分布圖。

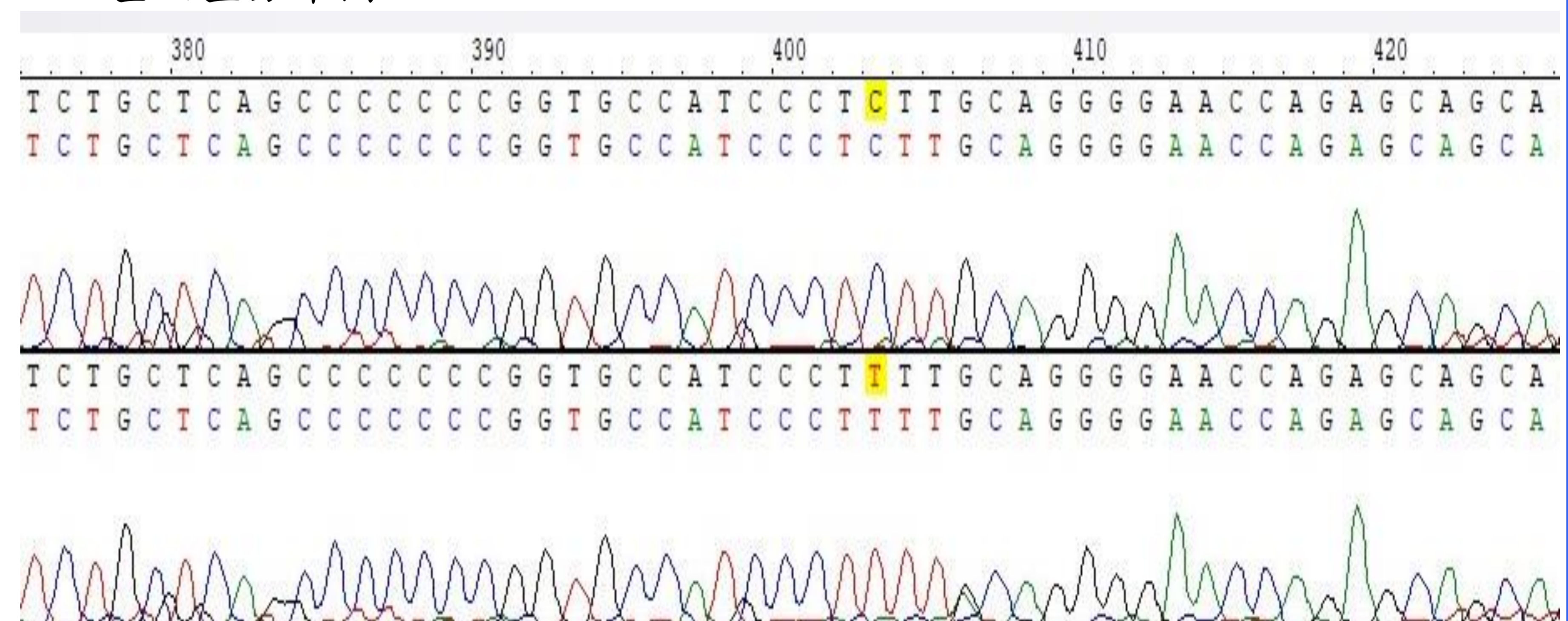


圖 2. 運用 ABI 3500xL 定序儀分析土雞 H-FABP 基因 Intron2 點突變 TT 型及 CC 型之結果。

表 1 運用即時聚合酶連鎖反應技術分析民間土雞場 H-FABP 基因 Intron2 點突變之基因型分析

品種	樣本數	H-FABP 基因型		
		CC	CT	TT
凱馨桂丁	26	9	10	7
黑羽土雞	30	2	16	12
烏骨雞	30	1	12	17