

## 基因體學在未來養豬業之角色

九十年代的大部份動物遺傳學家與育種者均依賴測量家畜表型 (phenotype)，並利用選拔與雜交育種方法來改良其畜群。現代的育種者通常在家畜生長過程中記錄表型資料，然後用先進的統計技術，如最佳線性無偏預測值 (BLUP)，來估計家畜的育種價 (EBV)，選拔最佳的個體作為種畜，改良具有中度到高度遺傳率的性狀。在豬，這類中度到高度遺傳率的性狀包括生長性狀及屠體組成等，其他像抗病力及繁殖性狀的遺傳率則很低，對選拔通常沒有很好的反應。育種者也曾運用配種系統來充份利用雜交優勢，在某些情況下，雜交優勢可以提供 10~20% 的改進。豬隻育種者已能運用雜交配種系統來利用雜交優勢及品種互補性的優點，並配合選拔來生產優良的合成公系與母系，以供生產上市肉豬。遺傳改進的速率因性狀而異，但通常每年有 1% 的改進量，對這些遺傳改進有貢獻的主要研究包括得到育種價的先進統計方法及用來發現與應用主效基因的統計方法之利用等。

至於那些對選拔沒有反應的性狀而言，經由確認可被操作及選擇的個別基因，已能提供額外的遺傳改良。九十年代末期的基因體革命已在新世紀提供定序基因體特定區域之工具，並完成整個基因體序列的分析。分子層次的基因體分析使動物遺傳學家可以檢視存在於商業豬種內及外來豬種的遺傳差異。在過去幾年，研究人員的努力已朝向發展包含不知名遺傳標記及已知基因的基因體圖譜。此外，其他物種的比較基因體圖譜則有助於尋找值得注意及有潛在用途的豬隻基因。

現在，遺傳圖譜的涵蓋範圍已足夠讓研究人員利用數量性狀基因座 (quantitative trait loci, QTL) 的連鎖分析發現引起變異的基因，這些 QTL 連鎖分析包括使用雜交第二代 (F<sub>2</sub>) 或回交家族及所收集到的表型數據，進行包含平均分佈於基因體內許多標記 (通常大於 100 個) 的全基因體掃描，許多這類的實驗正在進行中或最近剛完成，並已開始產生值得注意及有用的結果。候選基因 (candidate

gene)及比較基因體圖譜方法在確認影響許多性狀的主效基因上也很成功。候選基因是被假設會影響性狀表現的基因，經由比較基因圖譜分析，研究人員可以發現與性狀之可能 QTL 相關連區域內的特定候選基因。目前為止，已有許多主效基因是經由候選基因法分析而被發現。現在及未來的遺傳改進將有賴於更詳細的遺傳圖譜，以及對與豬隻重要經濟性狀有關的個別基因及基因家族功能及結構的更多了解。本文的目的是回顧近年來基因定位及基因體發現，並預測其未來發展及在養豬產業的應用。

### 豬基因圖譜的現況

歐美的科學家與行政人員早已透過合作的方式來產生遺傳圖譜資訊及進行家畜基因定位，歐洲主導的 PiGMaP 計畫包括了 18 個歐洲實驗室與美國、日本及澳洲的其他 7 個實驗室；而美國則有 USDA-ARS 所進行的基因定位計畫及 USDA-CSRS 所進行的全國動物基因體研究計畫。

在 1989 年時，豬只有 50 個基因及標記被定位。目前有二個主要的豬基因圖譜(分別為連鎖圖譜及物理圖譜)，資訊最充份的遺傳圖譜約含有 1,100 個基因座，大部份是不知名標記；新版 PiGMaP 遺傳連鎖圖譜包含 700 個以上的基因與標記，不同連鎖圖譜的覆蓋率有所變異，而標記間的平均距離約 3-5 分摩根(每一分摩根相當於一百萬個核 酸的長度)，這些圖譜可以經由共同出現的標記進行整合，研究人員正致力於製作大型的整合連鎖圖譜。物理圖譜的進展仍落後連鎖圖譜，但因為體細胞雜合及輻射雜合圖譜的發展，目前基因的物理定位正急起直追。豬基因的物理圖譜，目前含有 700 個以上的基因及標記，而輻射雜合圖譜則已有 1,500 個以上的標記。隨著基因定序方法的導入及表現序列標籤 (EST)的發展，物理圖譜與連鎖圖譜均快速成長，而使比較圖譜隨之擴增。與人類及老鼠的基因圖譜比較時，豬的基因圖譜仍相形失色，但是這些已知基因豐富物種的資訊將可有助於尋找與豬經濟性狀有關的個別基因。目前已知與豬隻各重要經濟性狀有關的基因列示於下。

## 1. 生長性狀

第一個成功的大規模 QTL 分析是用歐洲野豬與大白豬雜交的三代家族進行的。目前已在第 4 號染色體上找到一個可以解釋 20% 平均背脂與腹脂表型變異的主效 QTL，在第 13 號染色體也發現有一個可以影響 7-12% 生長表型變異的 QTL。候選基因分析則確認 PIT1 基因與背脂厚度及出生重有關聯，該基因已被定位於接近第 13 號染色體 QTL 的中央。

中國豬雜交家族的 QTL 掃描已確認第七號染色體上有生長與背脂性狀的 QTL，背脂與出生重 QTL 位於 TNFA 及 S0102 兩個標記的中央區域，而同一區域的候選基因分析也顯示 AMPEPN 基因與生長速率有關。整體而言，這個區域至少有一個影響生長與背脂的 QTL。

第五號染色體接近 IGF-1 基因區域的分析顯示，其對日增重有顯著效應。此外，生肌素(myogenin)基因與日增重有關，其他候選基因包括 CCK 與 CCKAR、瘦身蛋白質(leptin)及瘦身蛋白質受體基因，這些基因均已被定位，而且可能與生長、肥胖及食慾等性狀有關。

最值得注意的新發現可能是黑色素皮質素(melanocortin) 4 受體(MC4R)基因及其與飼料採食、生長及背脂有關的結果。美國愛荷華州立大學與 PIC 公司合作發現豬 MC4R 基因的一個自然發生之錯義(missense)突變可以使豬隻吃得更多(約 10%)、長得更快(6~8%)，但更肥(6~10%)。此一突變可用作基因檢測以改良某些肥胖程度適中母系的飼料採食及減少公系肥胖程度，此基因檢測已被專利並將用於產業界。

## 2. 肉質性狀

許多肉質性狀(pH，保水性及色素沈積)的 QTL 已被定位於第 2 及第 12 號染色體。愛荷華州立大學的研究顯示，第 4 及第 7 號染色體上的某些區域與豬肉肉色及緊實評分有關，第 3 號染色體則與肌纖維數目有關。Malic 酵素(一種肌肉內的脂肪生成酵素)活性已被證明與第 7 號染色體上之 SLA 複合體有關，

而 QTL 掃描的結果也顯示 SLA 複合體區域內有一個肌肉內雄烯酮 (androstenone) 含量(與公豬臭有關)的主效 QTL。其他的研究報告也指出，第 1 號染色體有腰眼面積的 QTL，第 1 及 X 染色體上有修剪後火腿重、里肌肉、野餐肉及肩胛肉之 QTL，以及第 7 號染色體有屠體長的 QTL。

第 6 號染色體上 RYR1 基因變異與水樣肉(PSE)有關早為人們所熟知。近來的注意力則集中於源自漢布夏豬種的 RN 基因，該基因與豬肉之低 pH 值及肝醣含量增加有關，該基因最早被定位於第 15 號染色體並被許多附近的標記所包圍。經多年的努力，終於確認該基因是一個 AMP 致活蛋白質激 (稱為 PRKA) 基因家族的新成員，很值得注意的是該基因與人類某種形式的糖尿病有關。研究人員正在尋找該基因是否可應用於改善人類健康，此新基因的發現將提供使用漢布夏豬種的育種者另一個可用於改良肉質之重要參考。最近的研究顯示，PRKA 基因有其他的突變，且可能影響豬肉肉質，這些突變廣泛地存在所有豬種，因此，將比原來的突變有更大的經濟重要性。

有關肌肉品質的候選基因研究中，第 6 號染色體上的心臟脂肪酸結合蛋白質(H-FABP)基因多態型已被發現與杜洛克豬種的肌間脂肪變異有關係，兩個純合子基因型間的肌間脂肪平均值差異約 15%。值得注意的是，背脂含量只能解釋一部份的肌間脂肪含量差異。如果耽心以選拔背脂厚度表型來增加肌間脂肪會造成背脂增加的問題，育種者將可根據基因檢測法測定 H-FABP 的基因型來選拔改良肌間脂肪含量，本檢測法已由荷蘭豬隻遺傳研究所申請專利。

其他利用候選基因法產生的肉質標記包括生肌素(可增加肌纖維數而影響肉質)及 calpastatin 基因。豬隻毛色雖然跟肉質沒有直接關係，但歐美屠宰場比較偏愛白色的豬，在某些地方(如英國)帶顏色屠體可能使每頭豬的成本增加美金 1 元。瑞典 Andersson 博士及其同事已確認 KIT 基因跟白色毛有關，並申請了 DNA 檢測的專利。MC1R 基因也已被確認可控制豬隻的紅色與黑色毛髮，此基因之檢測在美國已開放給大眾使用。

通常我們會認為遺傳只是累加性或顯性的，但是，已有報告指出許多基因銘印現象(imprinting)的例子，在家畜最早被報導的銘印現象是綿羊的後腿肌肉基因(Callipyge)，而在豬 IGF2 基因也已被報導有促進肌肉生長的效果。所謂基因銘印現象是指：基因的效應只有在它是從父母之一遺傳到時才可以看到。例如母性銘印時，該基因只有在其遺傳自母畜時才會表現其效應。最近荷蘭的研究顯示，這種基因銘印現象在豬可能很廣泛。雖然這些結果目前仍有爭議，預測這類基因座基因型的能力顯然有利於標記輔助選拔的應用。

### 3. 繁殖性狀

由於取得繁殖性狀需要比較大的來源家族、取得困難且耗時較長，因此，這些性狀 QTL 掃描的結果還很有限。第 8 號染色體上有影響子宮長度及排卵率的 QTL，比較主要的排卵率 QTL 可增加 3.07 個卵，但與排卵的 QTL 有一點距離。第 8 號染色體的另一位置有一個可以增加一頭產仔數的 QTL。第 8 號染色體上的高排卵率與高產仔數 QTL 很值得注意，因為它被定位到與綿羊 Booroola 多產基因(現在已知為 BMP 受體基因)的同源區域。利用第 8 號染色體同一區域的單一微衛星標記(OPN)也可以在商業品系發現其對窩仔數有顯著效應。進一步的證據顯示，第 8 號染色體頂端至少有一個窩仔數的 QTL，而在中心粒附近有另一個 QTL，其他染色體的 QTL 分析顯示第 4,6,7,13,15 號染色體上尚有其他影響繁殖性能的 QTL。

繁殖力的候選基因分析顯示，動情素受體基因(ESR)與窩仔數有顯著的關係。對偶基因效應的估計值在梅山豬合成品系為每胎增加 1.15 頭，而大白豬品系則為增加 0.42 頭，但這些結果尚未經過 QTL 掃描來確認。ESR 基因標記已成功地導入 PIC 公司大白豬母系的選拔指數中，並已加速了核心群的遺傳改進速率，而與這些母系雜交後所生的平均窩仔數也有所增加。

愛荷華州立大學在與 PIC 公司合作下，已發現泌乳素受體基因與窩仔數顯著相關，此結果已經在二個較小規模的研究獲得證實。最近的研究證實 retinol

binding protein 4 基因區篩選可使每胎窩仔數增加 0.25 頭仔豬。

#### 4. 抗病力與免疫反應性狀

已知有許多疾病會受遺傳影響。因此，新的基因體工具可以確認最後將可發現造成抗病力差異的基因。到今天，豬隻抗病力或免疫反應的 QTL 掃描研究仍很有限，某些免疫能力相關的 QTL 已被確認。已有一個基礎 cortisol 含量(可能與緊迫及免疫反應有關)的 QTL 被定位於第 7 號染色體的末端，最近德國的科學家也確認豬基因體的特定區域與假性狂犬病感染敏感性有關。

與抗病力及免疫反應有關的候選基因分析的成果相對較明顯。早在 20 多年前便已知道與 K88 品系 *E. coli* 下痢抵抗力有關基因的存在，控制豬 K88 *E. coli* 受器的基因已知位於第 13 號染色體，許多實驗室正在進行此基因之細微定位及候選基因分析。F18 *E. coli* 引起水腫病抵抗力有關的基因也已定位在第 6 號染色體上，二個 alpha (1,2) fucosyltransferase 基因(FUT1, FUT2)與豬血型抑制因子(S)緊密聯鎖，F18 *E. coli* 抵抗力基因座及這些基因已被當為候選基因來研究。研究結果證實，FUT1 基因的多態型與 F18 *E. coli* 抵抗力緊密聯鎖，可能是這些品種具有 *E. coli* 粘附抵抗力的突變。FUT1 及 FUT2 基因產物如何參與和細菌粘附有關碳水化合物結構的合成則尚待確認。但是這些資訊已被用來發展基因檢測及申請專利，此檢測法可供選拔具抗病力對偶基因的種豬群供生產商業肉豬。第 7 號染色體上的 SLA 複合體已被證實與旋毛蟲初級感染的抵抗力有關，但與弓蟲感染抵抗力無關，自然抵抗力相關巨噬細胞蛋白質 1(NRAMP1)基因與小鼠接種沙門氏桿菌的抵抗力有關，此基因最近已被定位於豬第 15 號染色體，但豬 NRAMP 基因多態型與沙門氏桿菌症間的明確關聯性尚未獲證實。

結合基因體掃描及候選基因法來尋找特定遺傳疾病的基因也正在進行中。此方法的實例之一為使用基因體掃描來先確認第 14 號染色體的基因區域，再進一步發現此基因與維生素 C 缺乏有關。L-gulono-gamma-lactone oxidase(GULO)基因可催化 AscA 生物合成最後步驟似乎是致病基因，其他這類

的計畫正在歐洲進行，以期發現其他遺傳異常有關的基因。

## 5. 基因多樣性

遺傳標記與基因的最後一個應用領域是基因多樣性，在這方面最早是檢測酵素的多態型，最近則使用微衛星標記，應用此方法的一個實例為歐洲的生物多樣性計畫。有人認為此方法只根據不知名標記並不足以決定功能上的多樣性，必須使用實際基因內的多態型，但此方曾用於說明羅馬尼亞二個當地豬種間功能基因的差異；相似計畫也正在亞洲進行中，主要的目的是對本地品種的牛、豬及羊進行特性分析。

### DNA 標記及其應用於豬隻選拔之前景

DNA層次的資訊可以協助生產者、育種者及獸醫師選拔特定的主要突變(如FUT1 抵抗力)或對抗負面的突變(像負面的鹵乙烷對偶基因或RN對偶基因)。DNA資訊也可以用於協助數量性狀的選拔(包含那些可以用傳統方法選拔的性狀)，例如利用ESR之B對偶基因增加窩仔數及MC4R來降低飼料採食。分子資訊可以增加選拔的準確性、容許對受性別限制性狀或銘印基因做選拔及容許選拔像肉質這類的性狀。因此，運用DNA技術可以增加族群內之選拔反應，許多研究人員已開始考量透過標記輔助選拔(MAS)計畫所能得到的額外選拔反應。目前已證明運用MAS可以有短期利益，在某些情況下，MAS可能會導致長期的不利，但這是在一個相當長時間的架構下所得到的推論。很重要的是，這些選拔反應在新標記持續被確認時是可以被維持的，例如，當舊的標記開始達到固定時，新標記可以被加入選拔指數中。在此同時，也期望使用像逢機標記及候選基因等工具可以使候選基因利用及尋找整個族群的連鎖不平衡在未來會有顯著的進展。例如，與毛髮顯性白色基因座很接近的增殖片段長度多態型(AFLP)標記已被確認，並用於選拔上市豬隻的毛色。另一個工具是同時利用大量單核 酸多態型(SNPs)及整個族群的連鎖不平衡來確認可被用於MAS的相關標記。總而言之，這些方法已產生有許多可應用於養豬產業的基因及標記。

預期豬基因體圖譜將會有新的發展，但要再產生數以百計的新標記不知名標記已不太可能。在過去這段短時間內，已建立了一個相當可觀的基因圖譜及完成了許多 QTL 及候選基因分析。QTL 掃描已確認了好幾個染色體，這些染色體現在已成為進一步染色體區域確認、QTL 細微定位及比較候選基因分析的標的，比較基因圖譜的不斷改進將有助於這方面的工作。其他的試驗不是進一步確認先前 QTL 在染色體的區域，並在最後分離出有應用潛力的基因，就是會產生不一致的結果。這些不一致的結果可能導因於基因單套型(haplotype；聯鎖的基因)效應、上位作用(基因間的交互作用)、背景基因型效應或取樣差異。由於要偵測到比較大效應的基因，也期望偵測中等效應的基因，因此，這些試驗的規模必須擴大，或者必須整合好幾個試驗的結果。最近，有幾個 PiGMap 參與者已將第四號染色體上的資訊整合，並在分析中得到額外的資訊，若干進行中的計畫也使用此方法加入其他 QTL 試驗。歐洲野豬及中國豬雜交試驗所發現的結果之重要性，也將在商業品系中進行評估。

### 基因表現研究

新技術的發展將提供可產生令人振奮結果的新工具，特別是有關基因定序的努力已使同時確認數十到數千個與經濟性狀有關的基因變成可行。這些基因定序計畫包括從特定組織發展基因體庫，使用這些特定組織內所表現之特定基因，研究人員可以選擇表現序列標籤(ESTs)，並進行定序。在豬，目前已有幾個這類的計畫在進行，而且已有 100,000 個以上 EST 已被存放於 GenBank 或更專門的資料庫內，包括從肌肉、繁殖組織、胚及免疫反應組織所確認的 ESTs，將有助於豬比較圖譜的快速進展，並可更快應用從人及老鼠基因體所得到的資訊。

ESTs 也可用來檢測基因表現。基因或 ESTs 可以被點到微陣列或基因晶片上，因而可以同時研究許多基因的表現，從患病或健康動物或其他處理組合動物取得的 RNA 在與微陣列或基因晶片雜交後進行比較。不同處理或狀態間基因表現出顯著差異時，將變成重要經濟性狀候選基因或重要生物路徑分析的指



引。許多公司已開始從接種特定病原動物取得組織進行分析的計畫，歐盟支持的 pathoCHIP 計畫便是其中一例，利用 DNA 晶片或微陣列來檢測基因表現將提供豬重要經濟性狀改良的新契機。

## 未來方向

微陣列及 QTL 掃描研究工作間的連接已在進行中，這個策略被稱為"遺傳基因體學(genetical genomics)"，它結合微陣列分析、基因分離分析及 QTL 掃描的資訊來確認候選基因及生化與生理路徑中之重要步驟，這種方法可能為瞭解疾病過程的遺傳控制提供最佳的解釋。QTL 掃描初步成功後，接著是發展緊密分佈的 SNP 圖譜。這個方法在人類的研究已相當成熟，主要用於發現與疾病相關的基因。此外，這類研究可用於開發藥物遺傳方法來確認基因-藥物交互作用或疫苗-基因交互作用。豬的 SNPs 圖譜正在建立中，像賽雷拉(Celera)公司已提出取得 SNP 圖譜的計畫，丹麥與中國大陸也已開始進行豬基因體定序計畫，美國也正討論進行類似的計畫。只要分析成本與其所產生的價值相當，進行中及其他尚未開始的計畫將提供未來豬隻改良的無限潛力，尤其是在動物健康領域可能更重要。

(黃三元摘譯/莊景凱 IPVS paper no. 25, 2002)