

國立臺灣大學生農學院動物科學技術學系



碩士論文

Department of Animal Science and Technology

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

豬隻不同品種及部位肌肉之脂質代謝相關基因表現

Expression of lipid metabolism-related genes in different muscles and
different breeds of pigs

許博淳

Bo-Chun Hsu

指導教授：王佩華 博士

Advisor: Pei-Hwa Wang, Ph.D.

中華民國 103 年 2 月

February, 2014



誌謝

在這段碩士班的過程中，若沒有 王佩華教授的敦敦教誨，就沒有今天這一本屬於自己的論文， 王佩華教授對我的指導不僅僅是在課業與研究上，更多的是與人相處之道，使我個性中許多的稜稜角角漸漸變得圓融， 王佩華教授不只是我的恩師，更是我生命中的貴人， 王佩華教授，這段時間謝謝您的指導。感謝在論文口試期間承蒙 林正鏞教授、 羅玲玲教授及 林榮信教授的細心審閱，並提供學生許多寶貴意見及鼓勵，這一切都使得本論文更臻完善。

而在研究期間，感謝實驗室內 的林恩仲教授，在研究架構、試驗設計分析及統計規劃上給予學生耐心的指導，也分了許多珍貴的人生經驗，使我受益良多。感謝分子生物研究室的 丁詩同教授借予學生許多寶貝的實驗器材使用，才能使學生順利完成論文。系辦公室的奕雯學姐、位育學長、一泓學長，感謝您這段日子來提醒我修課與畢業相關的事務。感謝場內的 鄭位明廠長及仲威學長，耐心的教導我各種畜牧技術及現場相關的注意事項。

感謝這段時期實驗室內所有成員，怡璇、蕙婷、雨蓁、宇軒，謝謝你們的陪伴，還常常幫我收拾善後；特別感謝 徐啟真博士及 陳怡蓁博士，從生活上的枝微末節到討論研究、修改，若沒有你們的指導與關懷，這本論文就沒有辦法順利完成。謝謝所有朋友這些日子給予我的鼓勵，讓我始終勇往直前，謝謝你們相信我，我也才能夠相信自己。

最後僅將本論文獻給我的家人，謝謝你們包容我的任性幼稚，也謝謝你們始終在背後支持著我，給予我力量。謝謝奶奶在天上一直照耀著我。

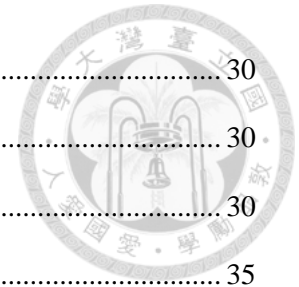
謝謝這一段旅程中所有經過的人。



目錄

誌謝.....	I
目錄.....	II
圖次.....	IV
表次.....	V
中文摘要.....	VI
Abstract.....	VIII
壹、前言.....	1
貳、文獻檢討.....	3
一、臺灣本地豬種與發展進程.....	3
(一)臺灣本地豬種.....	3
(二)臺灣本土豬隻發展進程.....	6
(三)臺灣黑豬之肉質特性.....	7
二、肌內脂肪之介紹.....	10
(一)肌內脂肪與肉質之關聯性.....	10
(二)肌內脂肪累積與代謝.....	10
(三)肌內脂肪與豬種之關聯性.....	10
三、肌內脂質代謝相關基因.....	12
(一)脂質生成相關基因.....	12
(二)脂質運送相關基因.....	16
(三)脂質分解相關基因.....	19
(四)脂肪酸去飽和基因.....	27
四、以基因表現預測肌內脂肪累積潛能.....	28
參、材料與方法.....	30

一、試驗豬隻.....	30
二、部位採樣.....	30
三、屠宰資訊收集.....	30
四、即時定量聚合酶鏈鎖反應(real-time PCR)分析.....	35
(一)肌肉組織總 RNA 萃取.....	35
(二)反轉錄 DNA 製備.....	35
(三)引子設計.....	36
(四)SYBR Green 法進行即時定量聚合酶鏈鎖反應.....	36
(五)標準曲線定量.....	36
(六)統計分析.....	36
肆、結果與討論.....	39
一、結果.....	39
(一)杜洛克與藍瑞斯脂質代謝相關基因表現比較.....	39
(二)屠體性狀表現差異分析.....	39
(三)不同豬種間其背最長肌(<i>MLD</i>)脂質代謝相關基因表現差異.....	42
(四)不同豬種間其肩胛半棘肌(<i>MSC</i>)脂質代謝相關基因表現差異.....	42
(五)不同豬種間其後腿股直肌(<i>MRF</i>)脂質代謝相關基因表現之差異.....	42
(六)豬種間不同部位肌肉脂質代謝相關基因表現之差異.....	43
二、討論.....	48
(一)脂質代謝相關基因表現與 IMF 累積研究探討.....	48
(二) <i>MLD</i> 與 <i>MSC</i> 脂質相關代謝基因表現模式.....	50
(三) <i>MRF</i> 脂質相關代謝基因表現模式.....	50
(四)不同豬種間脂質代謝相關基因表現之差異性.....	51
(五)屠體性狀與基因表現探討 IMF 累積潛力.....	51
伍、結論.....	58
陸、參考文獻.....	59





圖次

圖 1 桃園豬	5
圖 2 小耳種蘭嶼豬	5
圖 3 梅山豬	5
圖 4 畜試黑豬一號	8
圖 5 畜試迷彩豬	8
圖 6 畜試花斑豬	8
圖 7 高畜黑豬	8
圖 8 肌肉及脂肪細胞之能量代謝概觀	11
圖 9 <i>FAS</i> 基因序列之結構域圖譜	13
圖 10 動物體內 <i>FAS</i> 催化之脂質生合成反應	14
圖 11 <i>ATGL</i> 之脂解模式	21
圖 12 肌肉組織瘦體素所引起之脂肪酸氧化途徑	23
圖 13 肌肉組織中之 β 氧化途徑	26
圖 14 烏京豬脂質代謝相關基因表現途徑	29
圖 15 本試驗設計流程圖	31
圖 16 豬背最長肌之解剖位置	32
圖 17 豬肩胛半棘肌之解剖位置	33
圖 18 豬後腿股直肌之解剖位置	34
圖 19 洋種豬背最長肌與半棘肌之脂質代謝相關基因表現模式	53
圖 20 洋種豬股直肌之脂質代謝相關基因表現模式	54

表次



表 1 不同品種黑豬與雜交白豬背最長肌品評結果	9
表 2 脂肪酸結合蛋白家族	17
表 3 各脂質相關代謝基因引子序列	38
表 4 杜洛克與藍瑞斯其不同部位肌肉脂質代謝相關基因表現比較	40
表 5 不同豬種之屠體性狀表現差異	41
表 6 高畜黑豬、洋種豬與民間黑豬之背最長肌脂質代謝相關基因表現	44
表 7 高畜黑豬、洋種豬與民間黑豬之肩胛半棘肌脂質代謝相關基因表現	44
表 8 高畜黑豬、洋種豬與民間黑豬後腿股直肌之脂質代謝相關基因表現	46
表 9 高畜黑豬、洋種豬與民間黑豬種間不同部位肌肉之脂質代謝相關基因表現	47
表 10 高畜黑豬脂質代謝相關基因表現之敘述性統計	55
表 11 洋種豬脂質代謝相關基因表現之敘述性統計	56
表 12 民間黑豬脂質代謝相關基因表現之敘述性統計	57

中文摘要



肉中的肌內脂肪能夠影響肉之柔嫩度(tenderness)、多汁性(juiciness)及風味(flavor),在進行屠宰時常發現,臺灣本土黑豬其肌內脂肪含量高於瘦肉型洋種豬,而前人研究中對於豬隻基因表現與肉質相關的研究則常著重在背最長肌。因此,本研究除了比較臺灣黑豬與洋種豬的背最長肌之脂質代謝相關基因表現差異,亦同時納入分析肩胛與後腿其脂質代謝基因表現,探討不同豬種以及不同肌肉間的肌內脂肪累積潛能。

本試驗豬隻包括來自行政院農委會高雄種畜繁殖場之 14 頭高畜黑豬,以及來自民間豬場之 14 頭洋種豬(包含 7 頭藍瑞斯與 7 頭杜洛克)與 16 頭黑豬;收集其屠體性狀資料(屠體重、屠體長、第一肋、最後肋及最後腰椎三點平均背脂厚度)。此外,採集其第 10 至 11 肋間背最長肌、肩胛半棘肌與後腿股直肌之肌肉樣本以抽取 RNA,並以即時定量聚合酶(real-time PCR)SYBR 法偵測其脂質代謝相關基因表現,包括 *ATGL*、*SCD*、*HSL*、*LDLR*、*SREBP1c*、*CPT1b*、*FAS*、*Leptin* 以及 *H-FABP*。

試驗結果顯示,在高畜黑豬及民間黑豬的背最長肌及半棘肌中,其脂質生成相關基因 *SREBP1c* 及 *H-FABP* 的表現,顯著高於洋種豬($P<0.05$),而其脂質氧化基因 *CPT1b* 顯著低於洋種豬($P<0.05$),但高畜黑豬及民間黑豬兩者間沒有顯著差異;此外,洋種豬半棘肌之脂質分解相關基因 *Leptin* 的表現顯著高於高畜黑豬及民間黑豬,但兩種黑豬間則無顯著差異。在股直肌中,高畜黑豬與民間黑豬之脂質分解相關基因 *Leptin* 的表現顯著低於洋種豬($P<0.05$),但高畜黑豬與民間黑豬兩者間沒有顯著差異;而民間黑豬其脂質生成相關基因 *SREBP1c* 表現顯著高於高畜黑豬及洋種豬($P<0.05$),但高畜黑豬及洋種豬兩者間沒有顯著差異,脂肪酸轉運基因 *H-FABP* 表現於三者之股直肌中以民間黑豬最高,高畜黑豬次之,洋種豬最低



($P < 0.05$)。

在不同肌肉部位的比較中，高畜黑豬中在股直肌之 *H-FABP*、*FAS* 與 *SREBP1c* 表現顯著低於其背最長肌及半棘肌($P < 0.05$)，且在背最長肌及半棘肌之間並沒有顯著差異；然而，背最長肌與半棘肌的 *ATGL* 表現顯著高於股直肌($P < 0.05$)，但在兩者間沒有顯著差異。洋種豬股直肌之 *ATGL*、*H-FABP* 及 *CPT1b* 表現顯著地低於背最長肌與半棘肌($P < 0.05$)，而背最長肌與半棘肌之間則無顯著差異；背最長肌之 *FAS* 表現顯著高於其半棘肌及股直肌($P < 0.05$)，但在半棘肌及股直肌兩者間則無差異，而 *SREBP1c* 的表現以背最長肌為最高，半棘肌次之，股直肌為最低($P < 0.05$)；*Leptin* 基因在股直肌的表現量高於半棘肌及背最長肌($P < 0.05$)，但於半棘肌及背最長肌則無差異。民間黑豬之 *SREBP1c* 表現在股直肌中為最高($P < 0.05$)，而在其背最長肌與半棘肌中則有相似的表現；半棘肌之 *H-FABP* 表現顯著高於背最長肌及股直肌($P < 0.05$)，其在背最長肌與股直肌之間沒有差異；背最長肌之 *ATGL* 表現顯著高於半棘肌($P < 0.05$)，但在其餘肌肉之間則無顯著差異。

綜上所述，高畜黑豬與民間黑豬在背最長肌、肩胛及後腿之肌內脂肪累積潛力高於洋種豬，而此三豬種之背最長肌與肩胛之肌內脂肪累積潛能應高於後腿。為確認表型與基因表現之間的關係，則需要更多資訊，如一般成分分析、肉質性狀分析等。

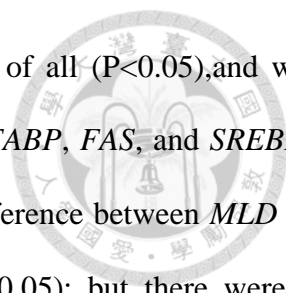
關鍵字：背最長肌、半棘肌、股直肌、肌內脂肪、脂質代謝相關基因、豬。

Abstract



Intramuscular fat (IMF) affects meat quality, especially juiciness, tenderness and flavor. The content of IMF are various in different types of muscle. Previous literature indicated that IMF content in *M. longissimus* muscle was higher in Kaohsiung Animal Propagation Station Black Pigs (KHAPS Black pigs) than in exotic pigs. However, the study in pig meat quality and phenotype of gene expression always focused on the *longissimus* muscle. Therefore, the objective of this study was to investigate the expression levels of lipid metabolism-related genes in different types of muscle among breeds. The study collected muscle samples from *M. Longissimus Dorsi* (MLD) between the 10th and 11th ribs, shoulder (*M. Semispinalis Capitis*, MSC) and ham (*M. Rectus Femoris*, MRF) of 14 KHAPS Black Pigs (K), 14 exotic pigs (E, seven Duroc and seven Landrace pigs) and 16 black pigs (B). Real-time PCR was used to quantitate mRNA expressions of the lipid metabolism-related gene, including *ATGL*, *SCD*, *HSL*, *LDLR*, *SREBP1c*, *CPT1b*, *FAS*, *Leptin* and *H-FABP* genes.

FAS is a key enzyme in fatty acid synthesis, and *SREBP1c* is the principal regulatory transcription factor for fatty acid synthesis in mammals. *H-FABP* is critical for fatty acid uptake as well as intracellular trafficking in muscles. Our results showed that the expression levels of *SREBP1c* and *H-FABP* in E pigs were the lowest of all ($P < 0.05$), and were similar in K/B. However, the expression level of *FAS* was significantly higher in MSC of K than E ($P < 0.05$), which suggested that the lipid synthesis and fatty acid transportation were higher in K and B compared with E, indicated the MSC of K expected more fatty acid synthesis than E pigs. *ATGL* is present in all cell types that can start initial step in lipid hydrolysis. Unlike *HSL*, *ATGL* shows strong preference for triacylglycerol as substrate. In skeletal muscle, *Leptin* played a major role in anti-obesity by directly affecting glucose and fatty acid metabolism. The



expression levels of *ATGL* and *Leptin* in E pigs were the highest of all ($P<0.05$), and were similar in K/B. In KHAPS Black Pigs, the expression levels of *H-FABP*, *FAS*, and *SREBP1c* were the lowest in *MRF* ($P<0.05$); but there were no significant difference between *MLD* and *MSC*. *ATGL* was significantly higher in *MLD* than in *MSC* ($P<0.05$); but there were no significant difference between *MSC* and *MRF*. In exotic pigs, the expression levels of *ATGL*, *H-FABP* and *CPT1b* in *MRF* were the lowest of all ($P<0.05$), and were similar in *MLD/MSC*. *FAS* in *MLD* was the highest of all ($P<0.05$), and there were similar in *MSC/MRF*. The expression levels of *SREBP1c* were in following order: *MLD*, *MRF* and *MSC*; *MLD* was the highest ($P<0.05$). *Leptin* was the highest in *MRF* ($P<0.05$), but not significantly difference between *MLD* and *MSC*. In black pigs, *MRF* showed the highest expression levels of *SREBP1c* ($P<0.05$), but was similar in *MLD* and *MSC*. The expression levels of *H-FABP* in *MRF* was the lowest of all ($P<0.05$), but there were no significant difference between *MLD* and *MSC*. *ATGL* was significantly higher in *MLD* than in *MSC* ($P<0.05$), but there were not significantly difference between *MSC* and *MRF*.

In conclusion, high potential of IMF accumulation could be expected in loin, shoulder and ham in K and B than in comparison of the expressions of lipid metabolism-related genes to exotic pigs. However, We need more information like carcass trait to analysis the association between phenotype and mRNA expressions.

Keywords: intramuscular fat, Lipid metabolism-related genes, *M. Longissimus Dorsi*, *M. Semispinalis Capitis*, *M. Rectus Femoris* , pig.

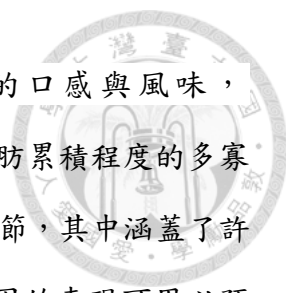


壹、前言

養豬產業在臺灣畜牧產業產值中所佔比例最大，根據行政院農業委員會公布的農業統計年報資料顯示，2011年臺灣地區豬隻屠宰有8,786,528頭，產值約751億元，而2012年臺閩地區豬隻屠宰有8,965,036頭，產值約667億元，2011年平均豬隻單價為8547元，而2012年平均豬隻單價為7440元(行政院農業委員會統計室，2012)，顯示豬隻價格下滑。自從臺灣於2002年加入世界貿易組織(World Trade Organization, WTO)，並開放豬雜碎肉及豬腹脅進口後，在2005年完全開放畜禽產品自由進口，唯一保護國內產業之措施僅剩關稅；另一方面，國內養豬成本又較美國、加拿大等豬肉出口國高出1.7~1.8倍，故大量且低價進口之豬肉已逐年壓低了國產豬肉價格，使得國產豬肉面臨強大的市場壓力。因此，確立國產的豬肉特色及豬肉品質以提高國產豬肉的競爭力，是眼前迫切的課題。

隨著經濟發展，消費者對於肉品的要求不僅是在食品安全上的保障而已，包括營養價值、種類及外觀等諸多因素也會影響購買意願，而現今大多數消費者偏好黑豬肉之良好口感、柔軟肉質且無臭腥味(呂，2010a；呂，2010b)。相較於白毛肉豬(瘦肉型洋種豬)以瘦肉率為主的市場需求，黑豬是以肌內脂肪為訴求。在2010年行政院農業委員會的資料顯示，臺灣黑豬的飼養頭數佔總養豬頭數(8,575,777頭)的15.83%。毛豬在養戶數10,078戶中，全部飼養黑豬戶數在總毛豬在養戶數10,078戶中占38.38%，而部份飼養黑豬戶數約占14.16%(行政院農業委員會統計室，2010)，表示黑豬飼養戶飼養規模不大，屬小戶飼養，承上所述，臺灣黑豬具有利基(niche)市場，適合建立地區性之特色化之品牌，並以精緻農業的形式生產高品質的豬肉。

肌內脂肪能(intramuscular fat, IMF)夠影響豬肉中的柔嫩度(tenderness)、多汁性(juiciness)及風味(flavor)程度(Fernandez *et al.*,



1999)。相較於國外瘦肉型豬種，臺灣黑豬普遍擁有較好的口感與風味，可能與黑豬本身肌內脂肪含量較多的特性有關。肌內脂肪累積程度的多寡是受到脂質生成 (lipogenesis) 與脂質分解 (lipolysis) 作用來調節，其中涵蓋了許多與脂質代謝相關之基因表現，意即藉由評估脂質代謝相關基因的表現可用以預測其肌內脂肪累積的潛能。

綜上所述，臺灣黑豬之口感與風味源自於肌內脂肪，而前人對於豬隻基因表現與肉質相關的研究常著重在背最長肌(里肌)上，國人傳統上食用豬隻部分亦包含了肩胛及後腿部位，若能確立在不同肌肉部位及不同豬種間，其脂質相關代謝基因、肌內脂肪與其他肉質相關之屠體性狀的相關性，便可用以預測豬隻脂內脂肪累積潛能。



貳、文獻檢討

一、臺灣本地豬種與發展進程

臺灣地區本土豬種大致上可分為小耳豬、小型長鼻豬、大型長鼻豬、桃園豬、美濃豬及頂雙溪豬等(張等, 2001)。

(一)臺灣本地豬種

早期所謂的臺灣黑豬是指桃園豬(Taoyuan)，但與實際在養豬種則因地區而有所差異(張等, 2001)，現今臺灣黑豬(Taiwan black pig)指的並不是單一或是品系的豬種，而是泛指為全身被覆黑毛之豬隻。

1.桃園豬 (Taoyuan)

依中國種品種誌的分類，桃園豬(圖 1)屬於江海型豬種，曾在臺灣養豬業佔有重要地位，1987 年正式列入國家級桃園豬保種族群。桃園豬體型中等，體區呈長方形，皮膚灰白，背凹陷，腹大且下垂，四肢粗短強健，蹄大且分節明顯，頭短而肥滿，鼻鏡黑色且鼻孔大，乳頭以六對居多(張等, 2001)。

2.小耳種蘭嶼豬(Small-ear Lanyu pig)

在荷蘭人入侵臺灣之前，已有飼養紅毛小耳豬，而後與漢族移民帶來中國豬種交配，產生黑毛小耳豬(戴等, 1997)。小耳種蘭嶼豬(圖 2)是為五月齡時成熟體重低於 70 公斤的小型豬種，其耳小而直，故又名小耳種豬。臺灣地區飼養高經濟豬種後，小耳種蘭嶼豬漸被淘汰，因其體型小之特點，1975 年臺大畜牧系李登元教授自蘭嶼引進後，與藍瑞斯進行雜交培育出生物醫學研究用之小耳種李宋系豬實驗豬種(宋等, 1988)

小耳種蘭嶼豬的皮膚毛短色黑且具有光澤，背部略凹，四肢粗壯強健，腳呈 X

字型且腳掌貼地(張等，2001)。

3.梅山豬(Meishan pig)

梅山豬(圖 3)原產於中國大陸江蘇省梅山縣，屬於太湖豬的一種，其以高繁殖力與高肉質著稱，其外觀耳大下垂，背凹且腹部下垂，皮膚厚且粗糙，毛黑且稀疏，四肢粗短，末端為白色，俗稱四白腳(張等，2001)。在肉質上與一般洋種豬相比，梅山豬含有較多的肌內脂肪含量、良好的口感及風味，因其高繁殖力與高肉質表現，各國常引進以雜交進行品種的改良，而臺灣目前所飼養的梅山豬多為 1994 年自日本所引進的梅山豬後代(顏等，2003)。



圖 1 桃園豬。

Figure 1 Taoyuan pig.



圖 2 小耳種蘭嶼豬。

Figure 2 Small-ear Lanyu pig.



圖 3 梅山豬。

Figure 3 Meishan pig.





(二)臺灣本土豬隻發展進程

臺灣有關於黑毛豬之研究報告相當缺乏，且多半集中於生長性狀或繁殖性能之探討（戴等，1997；廖等，2004），對於黑毛豬的培育選拔、屠體性狀多付之闕如。自臺大畜牧系李登元教授，於 1975 自蘭嶼引進蘭嶼小耳豬後，在 1983 年發表以藍瑞斯進行雜交培育出生物醫學研究用之小耳種李宋系豬實驗豬種。而行政院農業委員會畜產試驗所於 1986 年起利用多產特性與特殊肉質特性的桃園豬種，與高產肉性能的杜洛克進行雜交培育。歷經 12 年之選育工作，於 1999 年完成育種選拔工作。並於 2001 年 3 月依畜牧法之規定，完成畜試黑豬一號品種登記，並納入種豬登錄系統（顏等，2001），1989 年農委會台東種畜繁殖場以蘭嶼小耳豬及杜洛克選育出符合試驗動物模式之畜試迷彩豬，於 2003 年通過品種登記，同樣的，還有台東所以蘭嶼豬近親培育之畜試花斑豬。另一方面，行政院農委會高雄種畜繁殖場自 1997 年起，以高產特性與高肌內脂肪特性之梅山豬與高產肉與生長性能杜洛克進行雜交培育，在選育過程中以基因鑑定及篩選技術，並根據生長檢定結果設定選留標準，於 2009 年完成高畜黑豬之品種登記，是國內第一頭利用基因選種，並帶有純合型多產基因(MM)與抗緊迫基因(AA)之黑豬（許等，2011）。

1. 畜試黑豬一號(Taiwan Livestock Research Institute Black No.1 Pig, TLRIBP)

畜試黑豬一號(圖 4)是以具多產特性及特殊肉質特性的桃園豬種及高產特肉性能的杜洛克豬種為基礎進行雜交培育而成，其育種目標為快速改進豬之繁殖性能、提高種母豬年產上市肉豬頭數，期能發展出具本土特性與產品區隔之豬肉產品，以提升加入 WTO 後的國際競爭力。TLRIBP 外型特徵為全身黑毛被覆、垂耳、懸蹄、背直、捲尾、乳頭數六對以上，體型中等與杜洛克相似（顏等，2001）。

2. 畜試迷彩豬(LRI Mitsae Pig)與畜試花斑豬(LRI Spotty Pig)

畜試迷彩豬(圖 5)為蘭嶼小耳豬與杜洛克進行雜交，以棕白色條紋進行毛色選

拔及近親選育之品種，最大的特徵為棕白條紋之外觀，畜試花斑豬(圖 6)為蘭嶼小耳豬近親繁殖而成的隔離品種，具有小型體及封閉族群特性，外觀為黑色白斑，兩者期作為動物實驗模型，同樣的也都適合做為休閒觀賞用途。

3.高畜黑豬(Kaohsiung Animal Propagation Station Black Pigs, KHAPS Black Pig)

高畜黑豬(圖7)是以具有多產特性及高肉質特性的梅山豬與高生長產肉性能的杜洛克進行雜交選留，其歷經七個世代選育而成。在育種過程中各世代均經基因型鑑定技術，設定外型與生長標準，再根據生長檢定性能，選留性能優越之後裔做為留種繁殖，是國內第一頭利用基因選種之黑豬。高畜黑豬的肉質細緻、柔嫩且多汁，其與高畜黑豬之肌內脂肪含量較多有關(許等，2011)，而在屠宰後常發現高畜黑豬之肌內脂肪含量高於洋種豬種(黃，2011)。

(三)臺灣黑豬之肉質特性

臺灣黑豬肉質多汁甜美，具有本土在地特性及魅力，是很受消費者喜愛的肉產品。然而，臺灣一般民間黑豬品系遺傳組成雜亂，其品種飼養管理及上市體重與日齡均無標準可供參考，其在體型、屠體性狀及肌肉化學組成等有顯著性差異(陳，2007)。因此，一直無法對黑豬做出肉質等級的區隔，但普遍而言，臺灣黑豬其肉質優於非黑豬豬種。研究指出，臺灣一般民間黑豬背脂厚度及大理石紋評分顯著高於非黑豬豬種，而屠宰率顯著低於非黑豬豬種($P < 0.05$) (石，2007)。陳等(2007)指出，一般民間黑豬其背最長肌之嫩度及多汁性明顯優於畜試黑豬一號及一般雜交白豬(表 1)，在大理石紋分布的等級上也明顯優於畜試黑豬一號($P < 0.05$)，但畜試黑豬一號與一般雜交白豬並無顯著差異。



圖 4 畜試黑豬一號。

Figure 4 TLRI Black No.1 Pig.



圖 5 畜試迷彩豬。

Figure 5 LRI Mitsae Pig.



圖 6 畜試花斑豬。

Figure 6 LRI Spotty Pig.



圖 7 高畜黑豬。

Figure 7 KHAPS Black Pig.



表 1 不同品種黑豬與雜交白豬背最長肌品評結果¹

Table 1 Sensory evaluation of *longissimus dorsi* from different black pigs and crossbred white pigs

Items/breed	TLRI black pigs	Commercial black pigs	Crossbred white pigs
Tenderness*	5.1±0.3 ^c	5.8±0.4 ^a	5.4±0.5 ^b
Juiciness*	5.3±0.3 ^b	5.7±0.4 ^a	5.5±0.5 ^{a,b}
Flavor*	5.2±0.6 ^a	5.6±0.3 ^a	5.2±0.7 ^a

Mean ± SD.

^{a,b,c} Means within the same row with different superscripts are significantly different ($P>0.05$).

* Sensory panel test: 1 for dislike extensively and 7 for like extensively.

¹(陳等, 2007)



二、肌內脂肪之介紹

(一)肌內脂肪與肉質之關聯性

肌內脂肪(intramuscular fat, IMF)為肌肉束中脂肪含量的總合，其包含肌肉束與肌肉束間的脂肪及脂肪細胞所累積的脂肪，其含量的多寡與肉中大理石紋(marbling)的累積分布有極高的相關性($r = 0.86$)，其能影響肉之柔嫩度(tenderness)、多汁性(juiciness)與風味(falvor)程度(Fernandez *et al.*, 1999)，當豬肉中的 IMF 含量大於 2% 時，會開始顯著地提升豬肉口感(Bejerholm and Barton-Gade, 1986)，因 IMF 含量的增加除可減少肉中肌纖維束的交聯結構，使咀嚼時肌纖維較容易斷裂外(Gao and Zhao, 2009)，也能夠增加肌肉的保水力並淡化肉的顏色。而增進肉的口感(Van laack *et al.*, 2001)，而近年來的研究發現，消費者為滿足對於美味肉品的需求，而喜愛購買 IMF 含量高之豬肉商品(Faucitano *et al.*, 2004)。

(二)肌內脂肪累積與代謝

三酸甘油酯(triglyceride)佔了肌內脂肪 90% 以上的比例，其大部分儲存在肌肉束中與肌肉束間的脂肪細胞中，可藉由醣類糖解作用的填補反應(anaplerotic reaction)得到之脂源，或是由血液中攝入脂肪酸進行生合成，經由 β 氧化作用以提供肌肉組織能量，主要用為提供肌肉組織的能量。三酸甘油酯的增加或減少則是由 β 氧化作用與脂質生合成作用的平衡決定(圖 8)，不同的速率平衡將會使肌內脂肪增的累積加或減少(Hocquette *et al.*, 2010)。

(三)肌內脂肪與豬種之關聯性

IMF 含量具中到高度之遺傳率($h^2 = 0.4 - 0.6$)，且在不同豬種間有很大的差異性(Sellier, 1998)；在中國豬種或其雜交種中，其 IMF 含量常高於其他商用豬種(Young, 1992; Kinyamu and Ewan, 1994)。

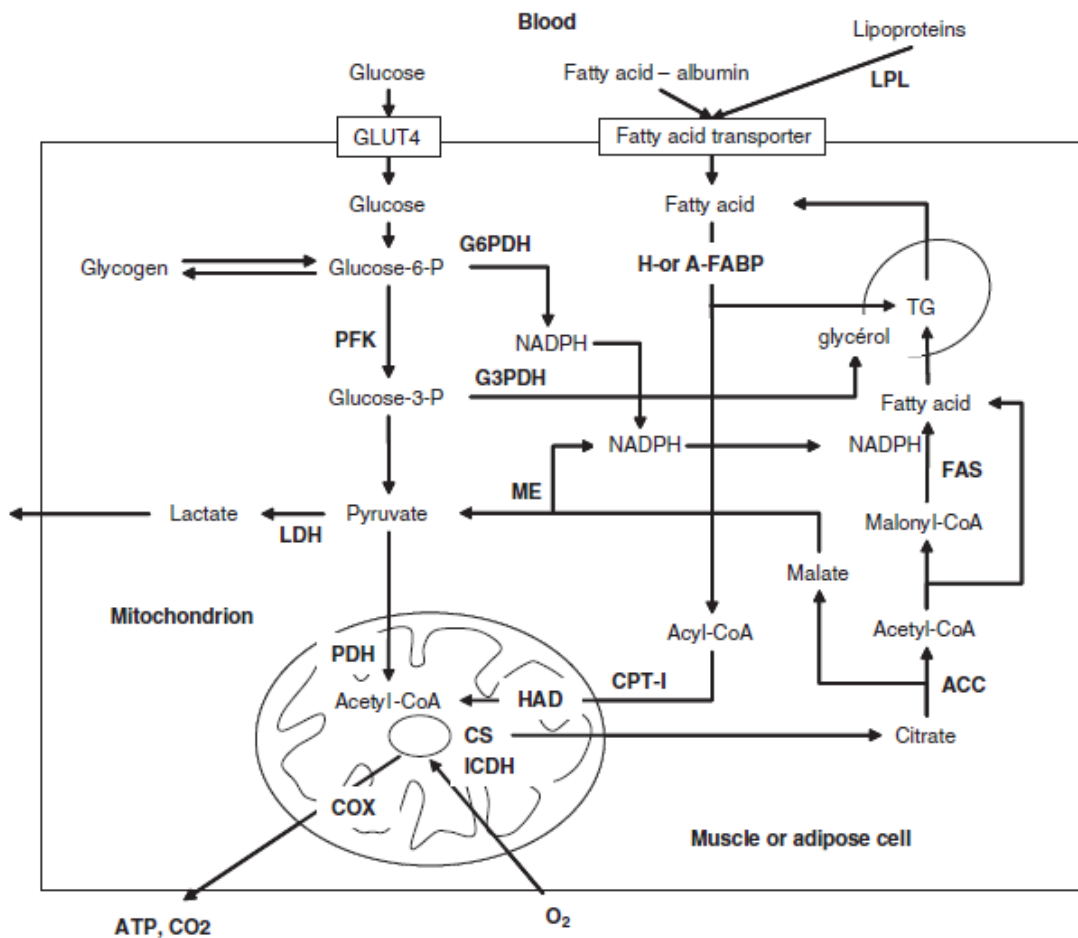


圖 8 肌肉及脂肪細胞之能量代謝概觀(Hocquette *et al.*, 2010)。脂質生成作用(右)為脂肪細胞中主要的代謝途徑。 β 氧化為氧化旺盛之肌肉纖維中之主要途徑。

Figure 8 Overview of energy metabolism in muscular and adipose cells. Lipogenesis (right) is a major metabolic pathway in adipose cells. Mitochondrial oxidation is a major pathway in oxidative muscle fibres. ACC5 acetyl-CoA carboxylase; COX5 cytochrome-c oxydase; CPT-I5 carnitine palmitoyltransferase-I; CS5 citrate synthase; ME: malic enzyme; H- or A-FABP = fatty acid-binding protein (H-FABP: heart and muscle isoform; A-FABP: adipocyte isoform); FAS = fatty-acid synthase; G3PDH = glycerol-3 phosphate dehydrogenase; G6PDH = glucose-6-phosphate dehydrogenase; ICDH = isocitrate dehydrogenase; HAD = hydroxyacyl-CoA dehydrogenase; LDH = lactate dehydrogenase; LPL = lipoprotein lipase; PDH = pyruvate dehydrogenase; PFK = phosphofructokinase; TG = triglyceride



三、肌內脂質代謝相關基因

三酸甘油酯的累積受到脂質相關代謝基因表現的調控，藉由代謝酵素及各功能性基因的運作，包含脂質生成相關基因 (lipogenetic genes)、脂肪酸運送基因 (fatty acid transporting genes)、脂質分解基因 (lipolytic genes)、脂肪酸氧化基因 (fatty acid oxidative genes)、脂肪酸去飽和基因 (desaturated fatty acid gene)，並行脂質生成 (lipogenesis) 以及脂質分解 (lipolysis) (Pethick *et al.*, 2004; Zhao *et al.*, 2009)。Fernandez *et al.* (1999) 以藍瑞斯與杜洛克雜交豬 (Landrace × Duroc, LD) 及梅山豬與藍瑞斯豬雜交種 (Meishan × Landrace, ML)，分析其 IMF 含量與脂質產物之關聯性，發現隨著 IMF 含量提高，無論是在 LD 或 ML 豬隻中，其三酸甘油酯含量會隨著 IMF 含量提高而顯著的升高 ($P < 0.05$)，而在 ML 的組別中，其游離脂肪酸 (free fatty acid) 的含量隨著 IMF 含量增高而顯著增高 ($P < 0.05$)，顯示 IMF 含量會明顯隨著細胞內脂質產物及游離脂肪酸的生成而提高。本章節就本研究所分析之脂質代謝相關基因作文獻探討與介紹。

(一) 脂質生成相關基因

1. 脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FAS)

脂肪酸合成酶依功能不同，可分為兩類：Type I 及 Type II。Type I FAS 存於哺乳動物及真菌中，主要功能為合成脂肪酸以供細胞利用，Type II FAS 存於古細菌 (archaeobacterial) 及真細菌 (eubacterial) 中，其功能與解離或聚合細菌有關，能藉由抑制 Type II FAS 的作用可抑制細菌生長 (Fulmer and Writer, 2009)。豬之 FAS 由 *FASN* 基因所編碼，*FASN* 位於 12 號染色體上，其序列上主要由 22 個表現序列 (exon) 及多個插入序列 (intron) 組成許多結構域 (domain) (圖 9)，其蛋白質分子量約為 250 kDa~272 kDa，由兩條多肽鏈構成為七種酶所組成之複合體，包含了 β -ketoacyl

synthase I、 β -ketoacyl synthase II、 β -ketoacyl synthase III、ACP、malonyl-CoA:ACP transacylase、enoyl reductase、dehydrase 及 β -ketoacyl reductase (圖 10)，所催化的七個反應能夠將細胞內帶有醯基輔酶 A(acyl-CoA)之脂源分子所產生之乙醯基輔酶 A(acetyl-CoA)與丙二醯基 (malonyl-CoA)，由醯基載體蛋白(acyl carrier protein, ACP)經過縮合及還原反應後，合成為 16 碳之棕櫚酸 (palmate acid)釋出，其化學式為 $\text{Acetyl-CoA} + 7\text{Malonyl-CoA} + 14\text{NADPH} + 14\text{H}^+ \rightarrow \text{Palmitic acid} + 7\text{CO}_2 + 8\text{CoA} + 14\text{NADP}^+ + 6\text{H}_2\text{O}$ (Stuart *et al.*, 2003)，進而增加細胞內棕櫚酸的含量提供細胞進行合成利用或形成其它脂類衍生物。脂肪酸合成酶的代謝調控是藉由上游刺激因子 (upstream stimulatory factor) 和固醇調節元件結合蛋白 (sterol regulatory element binding protein-1c, *SREBP-1c*) 進行轉錄調控 (Horton *et al.*, 2002)。

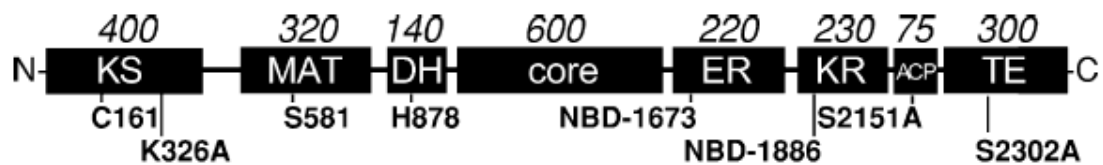


圖 9 *FAS* 基因序列之結構域圖譜 (Stuart *et al.*, 2003)。由左至右其機能性功能域依序為 β -ketoacyl synthase (KS), malonyl/acetyl transferase (MAT), dehydrase (DH), enoyl reductase (ER), β -ketoacyl reductase (KR), ACP and thioesterase (TE)

Figure 9 *FAS* domain in gene sequence. The order of functional domains was established as β -ketoacyl synthase (KS), malonyl/acetyl transferase (MAT), dehydrase (DH), enoyl reductase (ER), β -ketoacyl reductase (KR), ACP and thioesterase (TE).

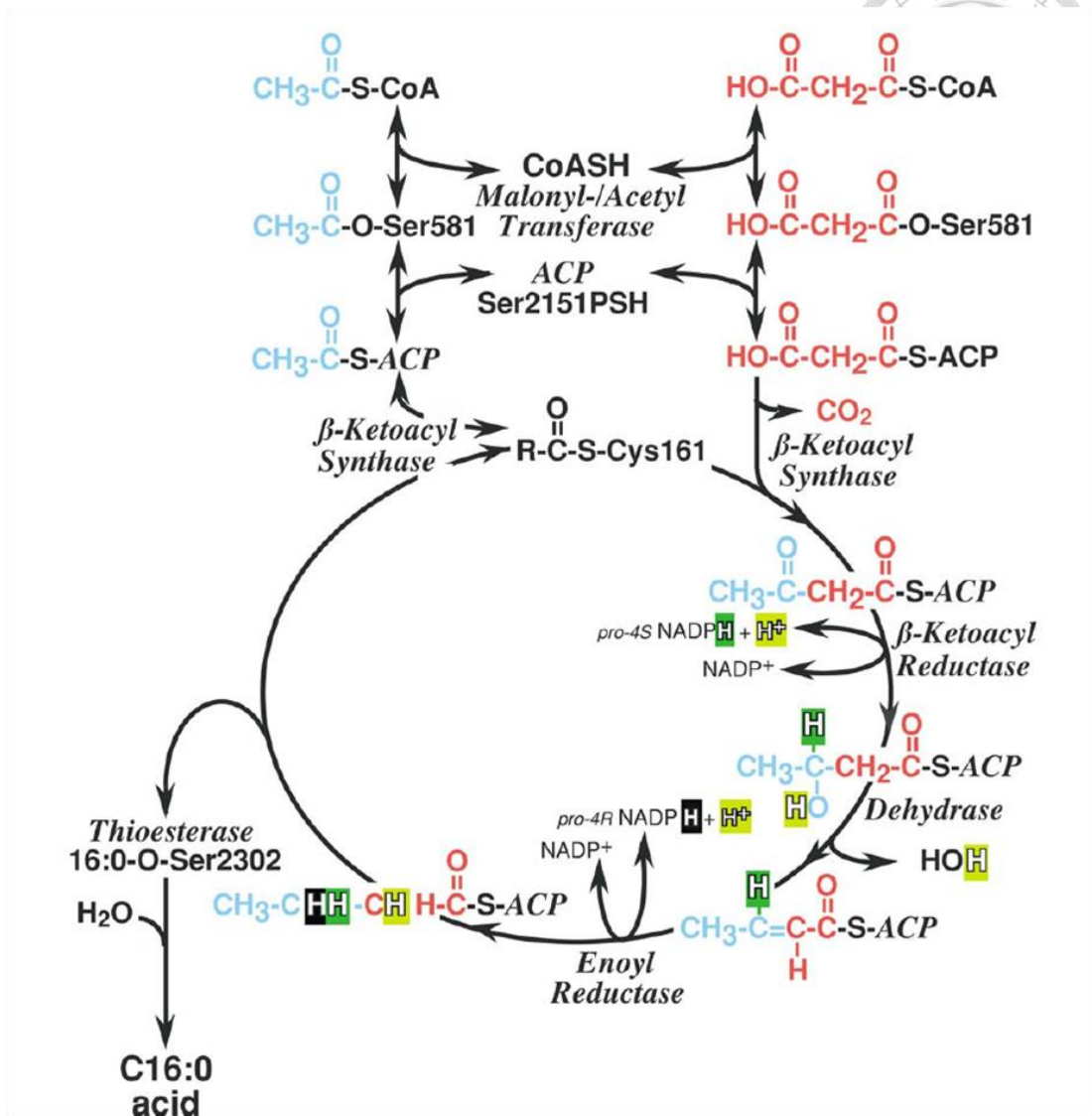


圖 10 動物體內 FAS 催化之脂質生合成反應(Stuart *et al.*, 2003)。

Figure 10 The fat biosynthesis of animals by FAS catalysis.



2. 固醇調節元件 1c (sterol regulatory element-binding protein 1c)

SREBPs (sterol regulatory element-binding proteins) 屬於螺旋-環-螺旋白胺酸拉鍊 (basic helix-loop-helix leucine zipper) 的轉錄因子。哺乳動物的 *SREBPs* 有兩類：分別為 sterol regulatory element-binding protein 1 (*SREBP1*) 及 sterol regulatory element-binding protein 2 (*SREBP2*) (Yokoyama *et al.*, 1993)。*SREBP1* 基因序列經不同的轉錄起點而有兩種形式的異構物 (isomer)，分別為 sterol regulatory element-binding protein 1a 以及 sterol regulatory element-binding protein 1c，其中 *SREBP1a* 大量表現在生長中的細胞，其藉由細胞內固醇濃度來調節細胞內膽固醇的製造，而 *SREBP1c* 則受胰島素調節，其在大部分的組織中均有表現，尤以在肝臟、大腦、白色脂肪組織及腎上現有大量表現，而在肌肉組織中，*SREBP1c* 也被認為是有適量表現，其負責胞內葡萄糖代謝與脂質的製造；而 *SREBP2* 負責調控細胞內膽固醇的代謝，其在大部分的細胞中皆有表現。(Parraga *et al.*, 1998; Guillet-Deniau *et al.*, 2004)

豬之 *SREBP1* 基因位於第 12 號染色體上，其基因序列主要由 13 個表現序列及 6 個插入序列所組成，所轉譯之 *SREBP1c* 胜肽鏈在內質網進行轉譯後修飾 (post transnational modification) 進入細胞核中，並結合至 *FAS* 基因的啟動子 (promoter) 上並活化 *FAS* 的表現 (Kim *et al.*, 1998)。另有研究報告指出，*SREBP1c* 能夠結合至 *SCD1* 及 *LDLR* 之 CCAAT/促進結合蛋白上 (enhancing binding protein) 而提高其表現 (Le Lay *et al.*, 2002)；另一方面，*SREBP1c* 在骨骼肌中可促進六碳糖激酶 II (hexokinase II) 的表現，以增進胞內葡萄糖的利用。



(二)脂質運送相關基因

1.心臟型脂肪酸結合蛋白(heart fatty acid binding protein, *H-FABP*)

心臟型脂肪酸結合蛋白為脂肪酸結合蛋白(FABP)家族的其中一員，*FABP* 基因序列主要是由 4 個表現序列及 3 個插入序列所組成，*FABP* 其可分為三大類型：fatty acid binding protein (*FABP*)、cellular retinol-binding protein I and II (*CRBP* I and II) 與 cellular retinol acid binding protein I and II (*CRABP* I and II)，其中 *FABP* 依其所在的組中部位不同又可分為七型(表 2)，分別為肝臟型(liver, L)、腸型(intestinal, I)、肌肉及心臟型(heart, H)、脂肪細胞型(adipose, A)、表皮型(epidermal, E)、迴腸型(ileum, II)、髓磷脂型(myelin, M)、腦型(brain, B)及睪丸型(testis, T)(Hertz and Bernlohr, 2000)。H-FABP 主要表現在哺乳動物的心臟、骨骼肌及泌乳時期的乳腺中，由 132 個胺基酸所組成，分子量約 14.5 kDa。生理上，H-FABP 能攜帶長鏈疏水性脂肪酸至粒線體進行 β 氧化而進入檸檬酸循環(citric acid cycle)，作為脂質訊息及胞內膜囊前驅物及轉錄因子配體而引發細胞內脂質生成合的訊號傳遞(signal transduction)，藉此調控細胞的生長與分化(Gerbens *et al.*, 1997)。

豬之 *H-FABP* 基因位於第六號染色體上，基因序列由 3 個插入序列及 4 個表現序列所組成，轉譯出之胺基酸與其他哺乳動物有 84~92% 之相似性。H-FABP 蛋白主要調節胞內脂肪酸運輸進行 β 氧化作用、三酸甘油酯合成及訊號傳遞等，其可調節 IMF 的含量而影響豬肉品質，但不會隨著背脂厚度減少而降低 IMF 含量(Gerbens *et al.*, 2000)。因此 *H-FABP* 可被視為影響豬 IMF 累積程度之候選基因。

表 2 脂肪酸結合蛋白家族¹

Table 2 Fatty acid-binding protein family



Gene name	Common name	Others names (species)	Expression
<i>FABP1</i>	Liver	<i>L-FABP</i>	Liver, intestine, kidney and lung
<i>FABP2</i>	Intestinal	<i>I-FABP</i>	Intestine
<i>FABP3</i>	Heart/muscle	<i>H-FABP</i>	Heart, mammary, skeletal muscle
<i>FABP4</i>	Adipocyte	<i>A-FABP</i>	Adipose tissue, macrophages
<i>FABP5</i>	Epidermal	<i>E-FABP</i>	Abnormal skin, endothelial cell
<i>FABP6</i>	Ileal	ILBP	Ileum
<i>FABP7</i>	Brain	<i>B-FABP</i>	Brain, olfactory bulb
<i>FABP9</i>	Testis	<i>T-FABP</i>	Testis
<i>MP2</i>	Myelin P2	Myelin P2	Schwann cells

¹ (Hertzel and Bernlohr, 2000)



2. 脂蛋白與低密度脂蛋白受體


(1) 脂蛋白(lipoprotein)

脂蛋白為一種在血液中運送脂質的蛋白，一個典型的脂蛋白包含疏水性核心(如三酸甘油酯或膽固醇酯)，親水性表面(如磷脂質及膽固醇)，與主體蛋白(apoprotein)，其依照密度的高低可分為四類，分別為乳糜蛋白(chylomicrons)、極低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)及高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL) (Lewis, 1973)。食物中的脂質被小腸絨毛吸收後形成乳糜蛋白，經肝門靜脈進入血流中，在脂解酶作用下釋出脂肪酸及三酸甘油酯供組織利用，剩餘的殘體則由肝臟吸收。VLDL 由肝臟製造，可攜帶三酸甘油酯，其經脂蛋白脂解酶作用後釋出脂肪酸供組織利用。LDL 為 VLDL 釋出三酸甘油酯後之產物，與低密度脂蛋白接受體結合後，LDL 釋出膽固醇供組織利用；血液中低密度脂蛋白-膽固醇複合體濃度過高會加快動脈硬化的速度(Fredrickson *et al.*, 1967; Kwiterovich, 2000)。HDL 主要將周邊組織的膽固醇運回肝臟代謝以減少其沉積在血管壁上，降低形成栓塞的機會。

(2) 低密度脂蛋白受體 (low density lipoprotein receptor, *LDLR*)

哺乳類的低密度脂蛋白受體基因家族，可藉由蛋白質上不同的結構域而分為七種類型，分別是 low density lipoprotein receptor(*LDLR*)、very low density lipoprotein receptor(*VLDLR*)、low density lipoprotein receptor-related protein 8(*LRP8*)、multiple epidermal growth factor repeat-containing protein (*MEGF7*)、lipoprotein receptor-related protein 1、lipoprotein receptor-related protein 1b 及 megalin，所有 *LDLR* 家族成員都有細胞表面受體，分別在不同組織調節脂質與膽固醇代謝的平衡(Gotthardt *et al.*, 2000)。

哺乳動物之 *LDLR* 分子量約為 16 kDa，由 839 個胺基酸組成之鑲嵌蛋白(mosaic



protein)，其細胞表面受體能藉由辨認 LDL 上的主體蛋白 B 100(apoprotein B 100)，進而攝入 LDL 並釋出膽固醇供細胞利用；動物體內約有 70% 的膽固醇由 LDL/LDLR 循環系統運送，此外，*LDLR* 也能藉由辨認主體蛋白 E(apoprotein E) 而攝入乳糜蛋白殘體及 VLDL 殘體而釋出殘於的脂肪酸以供給細胞利用 (Gotthardt *et al.*, 2000)。

(三) 脂質分解相關基因

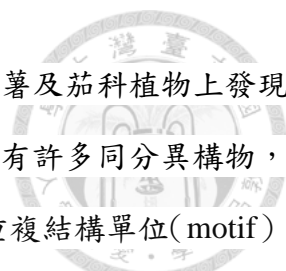
1. 荷爾蒙敏感型脂解酶 (hormone sensitive lipase, *HSL*)

哺乳動物之荷爾蒙敏感型脂解酶，分子量約為 84 kDa，其主要的作用為分解細胞中的脂質小滴 (lipid droplet)。目前所知的 *HSL* 至少有兩種異構物存在於不同的組織中，分為長型與短型兩種形式；長型主要存在於固醇類生成組織如睪丸中，能水解膽固醇酯釋出膽固醇供固醇類組織製造荷爾蒙，而短型存在於脂肪、胰島或骨骼肌中。因此，*HSL* 除了調控脂肪分解提供細胞能量，也可生成荷爾蒙前驅物。在不同生理狀況，如肌餓時 *HSL* 受昇糖素及 cAMP 的作用活化，或經兒茶酚胺 (catecholamine)、及促腎上腺皮質激素 (adrenocorticotrophic hormone, ACTH) 的作用活化，而在飽食過後會 *HSL* 受到血液中胰島素抑制，*HSL* 為一調控生理能量利用的重要基因 (Kraemer and Shen, 2002)。

豬之 *HSL* 基因位於第六號染色體上，主要有 9 個表現序列 (exon)，其 N 端結構域能與脂細胞脂質結合蛋白 (adipocyte lipid-binding protein, ALBP) 結合，而 C 端結構域為其活性催化位所在，其上的絲胺酸 (serine) 殘基能夠被蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 磷酸化，當細胞受到 cAMP 或兒茶酚胺活化 PKA 後，PKA 會磷酸化脂質包被蛋白 (perilipin) 與 *HSL*，而磷酸化之 perilipin 能協助 *HSL* 與脂質小滴接觸並開始脂質分解作用 (Kraemer and Shen, 2002)。

2. 脂肪細胞三酸甘油酯解酶 (adipose triacylglycerol lipase, *ATGL*)

脂肪細胞三酸甘油酯解酶為調控脂質小滴分解的起始水解酶 (first step



hydrolase)，屬於 patatin 家族的一員，而 patatin 是一最早在馬鈴薯及茄科植物上發現之醣蛋白，其編碼區域稱為 patatin domain。馬鈴薯中的 patatin 有許多同分異構物，其保留序列(conserved consensus sequence)之 Gly-X-Ser-X-Gly 重複結構單位(motif)具有非特異性醯基水解酶(acyl-hydrolase)活性，而在 patatin 之同功酶(isoenzyme)上發現其有 Ser-Asp 活性對，其 3D 結構與磷解酶(phospholipase, PLA)類似，因此被稱為 patatin-like phospholipase domain-containing protein (PNPLA)，在人類中存在著九種 PLANA 而在老鼠中則有八種，其中 ATGL 屬於 PNPLA2 (Andrew *et al.*, 1988; Rydel *et al.*, 2003)。

豬之 *ATGL* 基因位於第二號染色體上，由 PNPLA2 編碼之 504 個胺基酸所組成，*ATGL* 表現在脂肪細胞、心肌及骨骼肌上，能夠調節細胞內三酸甘油酯的累積。當細胞內 cAMP 含量上升，進而磷酸化脂質小滴上之 perilipin 釋出 CGI58 蛋白，而 CGI58 蛋白可活化 *ATGL* 蛋白並啟動脂質分解(Granneman *et al.*, 2007)(圖 11)。藉由 RNA 干擾(RNA interference)使 *ATGL* 失去功能後，可顯著地增加哺乳動物體內非脂肪細胞中脂質油滴的的累積，而過量表現 *ATGL* 也顯著地減少脂質油滴的大小(Smirnova *et al.*, 2005)。

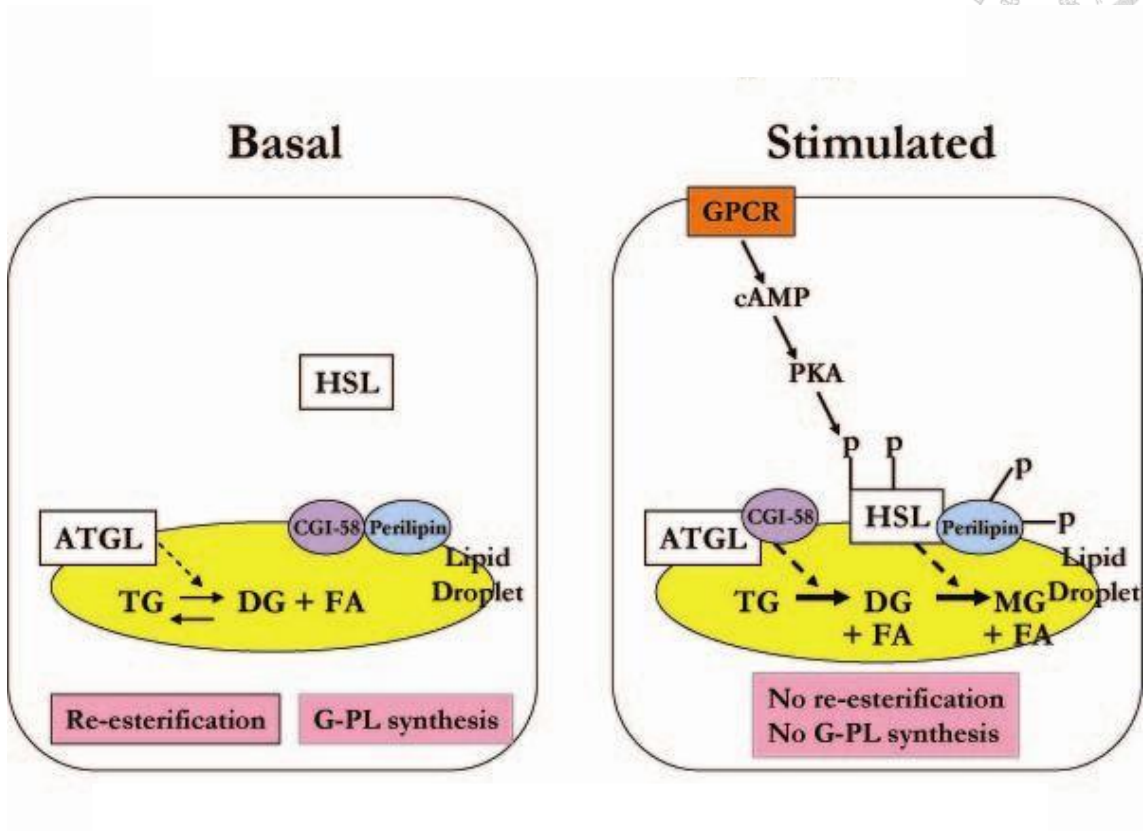


圖 11 ATGL 之脂解模式(Granneman *et al.*, 2007)。

Figure 11 ATGL model of lipolysis.



3.瘦體素(*Leptin*)

1950 年代，人們發現了某些小鼠會自然地發生肥胖，其稱為肥胖型小鼠 (*ob/ob* mice)，然而，受限於當時的技術，人們一直無法解釋此種小鼠肥胖的原因；直到 Zhang *et al.* (1994) 利用 *ob/ob* 小鼠建立起 *Leptin* 的生理圖譜 (physical map)，發現其肥胖基因上有一段編碼 167 胺基酸的保留序列與人類一致，此段序列的蛋白質產物能夠調節生理與能量平衡，而稱為瘦體素。瘦體素 (*leptin*) 是由肥胖(*obese*)基因所編碼之分泌性蛋白質，其由 167 個胺基酸所組成，分子量約 16 kDa，主要源自於白色脂肪組織，而棕色脂肪組織、骨骼肌、胎盤及胃也會分泌，可透過血液循環而至全身作用。瘦體素結合在不同的器官或組織之瘦體素接受體上時會產生不同的作用。在下視丘與腦中，瘦體素能夠抑制神經胜肽 Y (neuropeptide Y, NPY) 與大麻素 (anandamide) 的作用，並增加 alpha 促黑激素 (alpha melanocyte-stimulating hormones, α -MSH) 的合成，NPY 與 anandamide 有抑制交感神經、興奮副交感神經及增進食慾的作用，而 α -MSH 能抑制食慾，而此造成瘦體素抑制能食慾及增加基礎代謝率 (Weber, 2003)。另一方面，瘦體素在脂肪與肌肉組織中能增加脂肪酸的 β 氧化作用而減少脂肪酸的堆積，當瘦體素結合至細胞上的受體後，能啟動腺苷單磷酸活化蛋白激酶激酶 (AMP-activated protein kinase kinase, AMPKK) 途徑而磷酸化腺苷單磷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK)，活化的 AMPK 再度磷酸化乙醯輔酶 A 羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase, ACC)，被磷酸化的 ACC 會抑制瘦體素表現進而使得胞內丙二醯基輔酶 A 的含量下降，並增進肉鹼棕櫚醯轉移酶 1b (carnitine palmitoyltransferase 1b, CPT1b) 的表現而使 β 氧化作用提高，加速了脂質的氧化作用 (圖 12) (Minokoshi *et al.*, 2012)。

Pelleymounter *et al.* (1998) 剔除 *ob/ob* mice 的 *Leptin* 基因後，給予外源性處理瘦體素治療後，發現小鼠的肥胖程度顯著的減少，顯示 *Leptin* 基因對於肥胖的發生扮演重要的角色。豬之 *Leptin* 基因位於 18 號染色體上，由 3 個表現序列 (exon) 及 2 個插



入序列組成 (intron)，與人類 *Leptin* 序列有 92% 的相似性。有肥胖型豬種脂肪細胞之 *Leptin* mRNA 表現量顯著低於瘦肉型豬種，顯示 *Leptin* 對於豬隻的脂肪累積具有相當大的影響 (Ramsay *et al.*, 1998)。

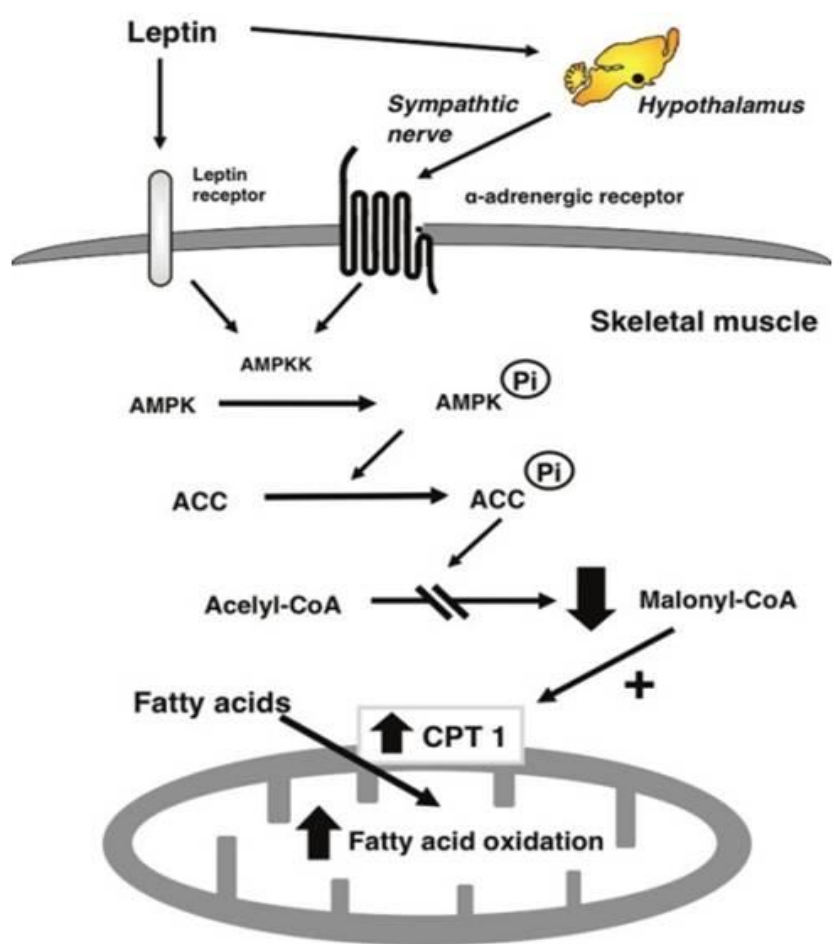
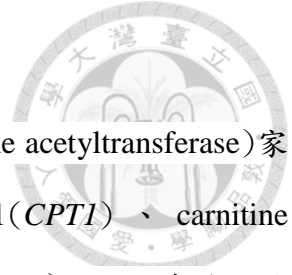


圖 12 肌肉組織瘦體素所引起之脂肪酸氧化途徑 (Minokoshi *et al.*, 2012)。瘦體素活化肌肉中 AMPKK/AMPK 途徑，ACC 被 AMPK 磷酸化後抑制了活性，而抑制了丙二酰基輔酶 A 的合成，使肉鹼棕櫚醯轉移酶 1 活化而增加 β 氧化作用，而提高了肌肉中脂肪酸的氧化作用。

Figure 12 Stimulatory effect modal of leptin on fatty acid oxidation in muscle. Leptin activates AMPKK/AMPK in muscle. Activation of AMPK phosphorylates and inhibits ACC activity. Leptin then inhibits malonyl CoA synthesis, by activating carnitine palmitoyltransferase (CPT1), thereby increasing mitochondria import and fatty acid oxidation in muscle.



4. 肉鹼棕櫚醯轉移酶(carnitine palmitoyltransferase, *CPT*)

肉鹼棕櫚醯轉移酶屬於肉鹼/膽鹼乙醯轉移酶(carnitine/choline acetyltransferase)家族的一員，其可分為 carnitine palmitoyltransferase 1(*CPT1*)、carnitine palmitoyltransferase 2(*CPT2*)與 carnitine O-octanoyltransferase(*COT*)，*CPT* 家族主要的作用是將脂肪酸從粒線體外膜運送至內膜以進行 β 氧化作用而產生能量，而 *COT* 家族則催化 $\text{octanoyl-CoA} + \text{L-carnitine} \rightleftharpoons \text{CoA} + \text{L-octanoylcarnitine}$ 此一化學反應。粒線體外膜結合的肉鹼棕櫚醯轉移酶 1(carnitine palmitoyltransferase-1)，可依所在的組織位置不同而分成三型，分別為分布於肝臟的肉鹼棕櫚醯轉移酶 1a(carnitine palmitoyltransferase-1a, *CPT1a*)；廣泛分布在心臟、骨骼肌、白色與棕色脂肪組織中的肉鹼棕櫚醯轉移酶 1b(carnitine palmitoyltransferase-1b, *CPT1b*)以及在腦組中發現的肉鹼棕櫚醯轉移酶 1c(carnitine palmitoyltransferase-1c, *CPT1c*)，但其詳細功能仍未明瞭。與粒線體內膜結合的肉鹼棕櫚醯轉移酶 2(carnitine palmitoyltransferase 2)，則在所有組織中皆有發現(Yamazaki *et al.*, 1997; Price *et al.*, 2002)。

哺乳動物的 *CPT1* 基因序列主要由多個表現序列、上游表現序列及許多散布其中的插入序列構成，在啟動子上有一連串高度保留之短分散重複序列(short interspersed repeated sequences, SIREs)，但不同物種中其 *CPT1* 插入序列則有很大的差異性，如人類 *CPT1* 基因 5'端與 3'端之未轉譯序列上發現有多樣的剪接作用，而在小鼠的心臟，骨骼肌發現有內含子保留(intron retention)現象 (van der Leij *et al.*, 2002)。

CPT1b 主要表現在哺乳動物的心肌與骨骼肌中，並結合至粒線體外膜上，在長鏈脂肪酸上加入 Carnitine 後，經由 FAT/CD36 轉運蛋白將脂肪酸送至粒線體內膜基質進行 β 氧化(Campbell *et al.*, 2004)(圖 13)。Huang *et al.* (2009) 以添加甜菜鹼(Betaine)之飼糧餵飼雜交豬(Duroc \times Seghers)與餵飼標準飼糧之豬(對照組)相比，屠宰後採其肝臟及背最長肌檢測 *CPT1a* 及 *CPT1b* 之表現量，發現餵飼甜菜鹼之豬隻肝臟與肌肉的 *CPT1b* 表現量顯著低於餵飼標準飼糧的豬隻 ($P < 0.05$)，而背最長肌中的肌內脂

肪含量也顯著高於對照組 ($P < 0.05$)，但兩者肝臟中的脂肪含量並沒有顯著差異，顯示抑制 *CPT1b* 的表現能顯著減少肌肉內脂肪的消耗。



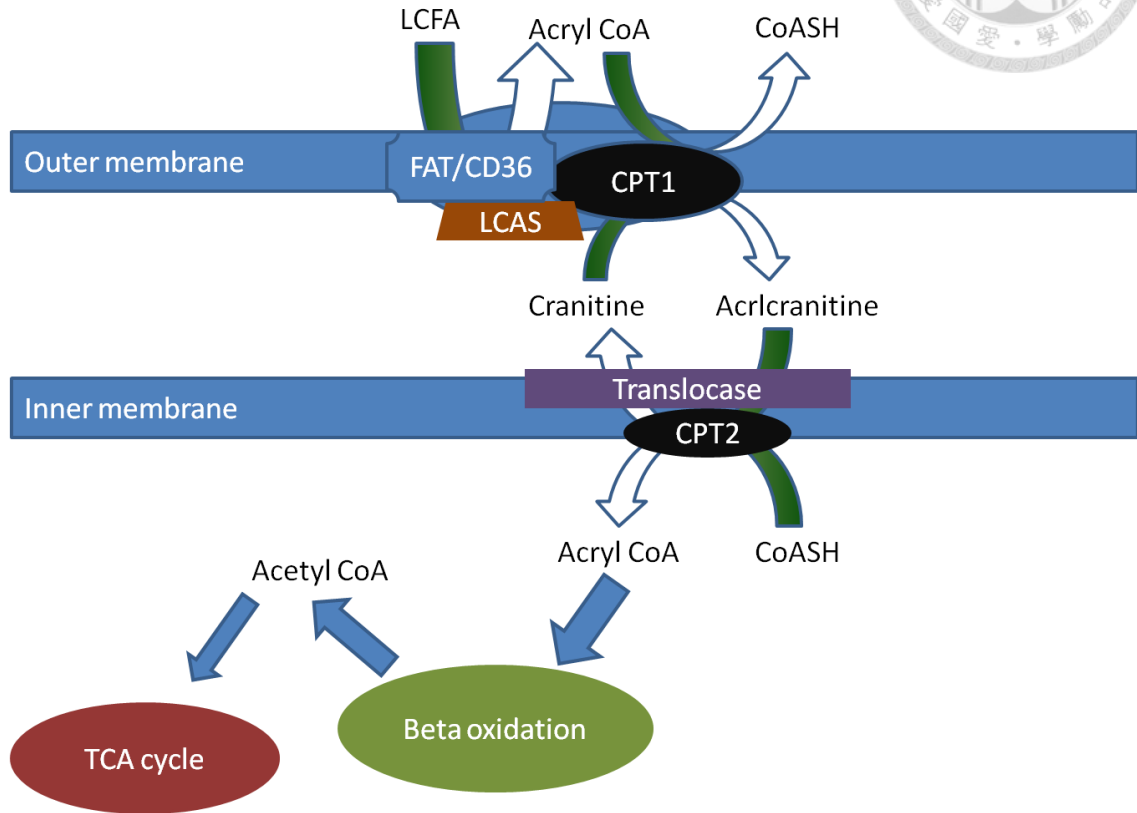


圖 13 肌肉組織中之 β 氧化途徑 (Campbell *et al.*, 2004)。

Figure 13 The β -oxidation pathway in muscle tissue.



(四) 脂肪酸去飽和基因-

1. 硬脂輔酶 A 去飽和酶 (*stearoyl-CoA desaturase, SCD*)

硬脂輔酶 A 去飽和酶是一種微粒體 (micromal) 形式之酶，與內質網相接且有含鐵離子的催化位，在硬脂酸 (stearic acid) 與棕櫚酸 (palmitic acid) 之九號碳 (C₉) 及十號碳位 (C₁₀) 上導入氫鍵，形成順式雙鍵而成為油酸 (oleic acid) 與棕櫚油酸 (palmitoleic acid)。油酸與棕櫚油酸是合成磷脂質、膽固醇酯及三酸甘油酯的前驅物；三酸甘油酯與磷脂質是形成細胞膜的重要物質，含量不足會造成細胞膜的流動性或結構改變，進而影響細胞功能，而膽固醇酯與三酸甘油酯則為肝臟合成極低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 的成分，缺乏時會影響脂質正常生理代謝 (Mihara, 1990)。

SCD 已在多個物種中被發現，目前已知有五種形式，先是在小鼠中發現 *SCD1*、2、3 及 4，爾後在牛及人類中發現 *SCD5*。小鼠之 *SCD* 基因皆位於第 19 號染色體上，基因序列上有 6 個表現序列及 5 個插入序列，*SCD1*、2、3 及 4 之胺基酸序列約有 85% 的相似性，分子量約 41 kDa。*SCD1* 及 *SCD2* 主要表現於哺乳動物的心臟、肝、腎及少量表現於骨骼肌中，*SCD3* 表現於皮脂腺中，而 *SCD4* 只在心臟中有表現。*SCD1* 在山羊、牛、綿羊及豬中已被鑑定出來，為最被廣泛研究的 *SCD* 形式，*SCD1* 包含了三個結構域，分別為外膜結構域 (extracellular membrane domain)、跨膜結構域 (transmembrane domain) 及內膜結構域 (intracellular membrane domain)，其 N 端及 C 端皆面向細胞質，C 端的 8 個組胺酸 (Histidine) 殘基為催化活性位所在 (Paton and Ntambi, 2009)。

Dobrzyn and Dobrzyn (2006) 的研究發現，*SCD1*^{-/-} 小鼠其比目魚肌 (*soleus muscle*) 的脂肪酸含量顯著低於正常小鼠，顯示 *SCD1* 基因的缺失導致肌肉細胞內脂肪酸含量下降。



四、以基因表現預測肌內脂肪累積潛能

烏京豬為一中國豬種，其肉中 IMF 含量顯著高於瘦肉型豬種，Zhao *et al.* (2009) 分析烏京(Wujin)豬與藍瑞斯豬其脂質代謝相關基因表現，發現烏京豬其脂質生成相關基因表現顯著高於($P<0.05$)藍瑞斯豬，脂質分解相關基因則顯著低於藍瑞斯豬($P<0.05$)，並指出此基因表現模式可能是造成 IMF 累積的原因(圖 14)。

臺灣黑豬在屠體性狀、肉質特性及其基因表現相關研究相當的匱乏，而有關黑豬肉製品加工研究報告更是寥寥可數(陳等，2001)。為求順利推廣畜試所黑豬至民間養豬業者，需對於黑豬之屠體生鮮肉加以詳細研究，肉質是由多項因素決定，然而與肉質最為相關的因素是為肌內脂肪，因先前培育之畜試黑豬一號其肉質遜於一般民間黑豬，此使推廣上有其困難性，而高畜黑豬在屠宰中常發現，其肌內脂肪含量常高於一般洋種豬種。而本試驗目的為瞭解高畜黑豬、洋種豬以及一般臺灣民間黑豬之脂質代謝相關基因表現模式，期以脂質代謝相關基因表現來預測肌內脂肪的累積潛能。

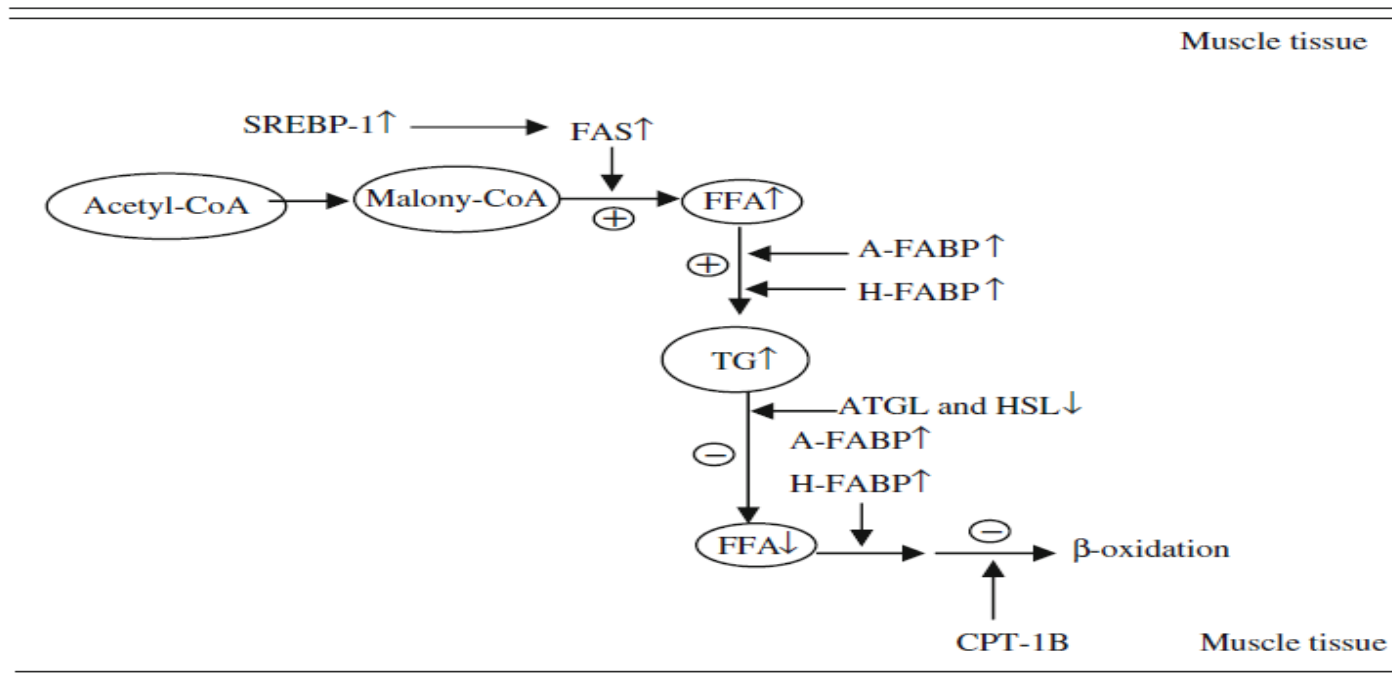


圖 14 烏京豬脂質代謝相關基因表現途徑(Zhao *et al.*, 2009)。此結果為高 IMF 含量之烏京豬與藍瑞斯豬之比較，"↑"表示正向調控之基因表現；"↓"表示負向調控之基因表現；"+" 表示此代謝途徑增強；"-"表示此代謝途徑減弱。

Figure 14 The lipid metabolism-related gene expression pathway of Wujin pigs. The causes of higher IMF content in Wujin pigs comparing with Landrace pigs. "↑" represents up-regulated gene expression; "↓" represents down-regulated gene expression. "+" represents the metabolism pathways being strengthened; and "-" represents the metabolism pathways being weakened.



參、材料與方法

一、試驗豬隻

本試驗豬隻分別為來自行政院農業委員會畜產試驗所高雄種畜繁殖場之 14 頭高畜黑豬(閩公豬與母豬各半)，與民間豬場之 7 頭純種藍瑞斯(包括 3 頭女豬與 4 頭閩公豬)、7 頭杜洛克(3 頭女豬與 4 頭閩公豬)及 16 頭民間黑豬(閩公豬與女豬各半)。試驗豬隻屠宰體重約 100~130 公斤，其屠宰與分切皆在屏東台灣農畜工業股份有限公司(簡稱台畜公司)進行屠宰，本試驗流程如圖 15 所示。

二、部位採樣

剖半之豬隻送至預冷室保持 4°C 低溫進行採樣作業，所採集之肌肉組織分別為：第 10 至 11 肋間之背最長肌(*M. Longissimus Dorsi, MLD*)(圖 16)、肩胛半棘肌(*M. Semispinalis Capitis, MSC*)(圖 17)及後腿股直肌(*M. Rectus Femoris, MRF*)(圖 18)。

三、屠宰資訊收集

各試驗豬隻於屠宰前及屠宰後，收集屠宰豬隻之活體重(live weight)、屠體重(carcaass weight)、與第一肋背脂厚度、最後肋背脂厚度、最後腰椎背脂厚度與三點平均背脂厚度(backfat thickness)，各部位分切資訊如梅花肉(boston butt)重、後腿肉(ham)重里肌肉(loin)重、前段脂肪(forepart fat)重、板油(leaf fat)重、中段脂肪(mid-portion)重與後段脂肪(hind part fat)重。

1. 豬隻背脂三點厚度於屠宰後於屠宰線上測量。
2. 各部位分切資訊於豬隻屠宰後，隔天於分切室線上測量。



Longissimus

Muscle Name

Longissimus

Group

Dorsal

Common Name

Ribeye, strip, Delmonico steak

Insertion

(1) The lumbar transverse and articular processes; (2) the thoracic transverse processes; (3) the spinous and transverse processes of the last four cervical vertebrae.

Innervation

Dorsal branches of thoracic and lumbar nerves.

Blood Supply

Dorsal, deep cervical, intercostal, and lumbar arteries.

Origin

(1) The tubera, crest and adjacent part of the ventral surface of the ilium; (2) the first three sacral spines; (3) the lumbar and thoracic spines and supraspinous ligament.

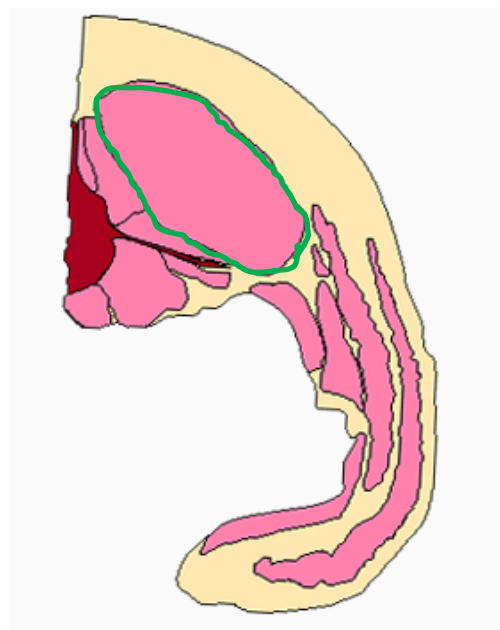
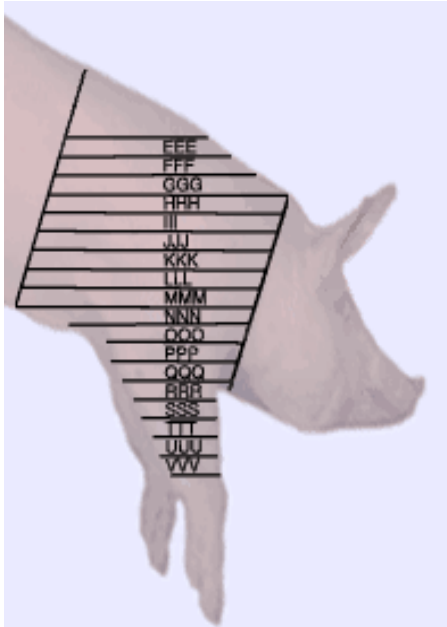


圖 16 豬背最長肌之解剖位置(綠色標記) (Porcine Myology, 2005)。

Figure 16 The anatomy section of *Longissimus Dorsi* in pig (green marked).



Semispinalis Capitis



Muscle Name

Semispinalis Capitis

Group

Neck

Common Name

Biventer cervicis, Complexus

Insertion

Occipital bone between superior and inferior nuchal lines.

Innervation

Dorsal primary rami of cervical spinal nerves

Blood Supply

Deep cervical artery, intercostal, and vertebral arteries

Origin

Transverse processes of five or six upper thoracic and articular processes of four lower cervical vertebrae

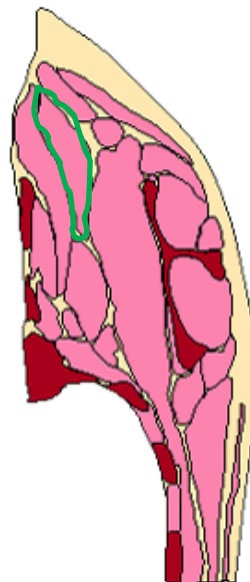
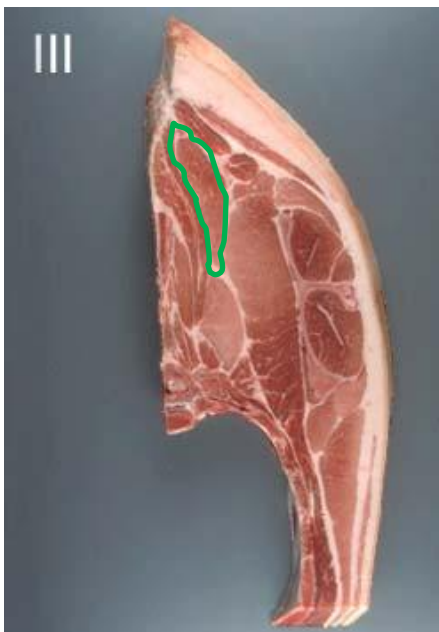


圖 17 豬肩胛半棘肌之解剖位置 (綠色標記) (Porcine Myology, 2005)。

Figure 17 The anatomy section of *Semispinalis Capitis* in pig (green marked) .



Rectus Femoris

Muscle Name
Rectus Femoris

Group

Pelvic

Common Name

Culotte, Knuckle, London broil, Outside round

Insertion

The base and anterior surface of the patella

Innervation

Femoral nerve

Blood Supply

Femoral and iliaco-femoral arteries.

Origin

A tuberosity on the ilium just cranial to the acetabulum

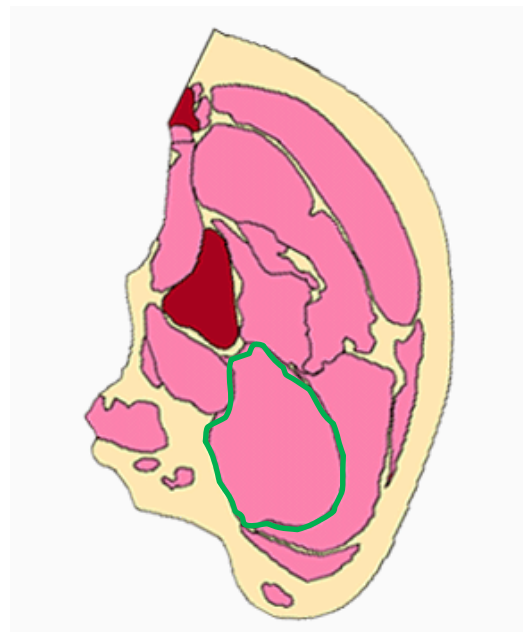
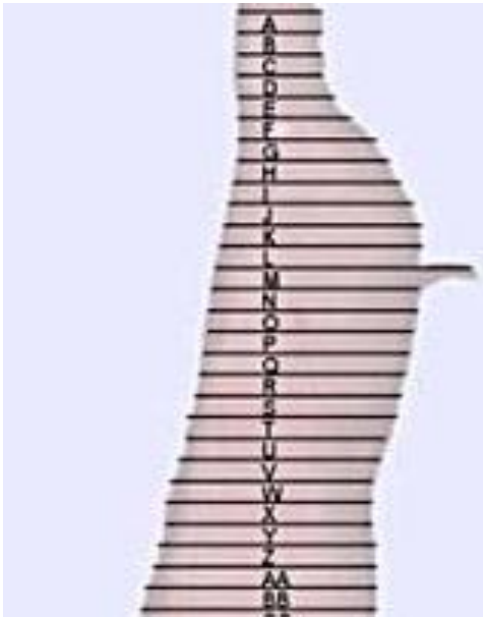


圖 18 豬後腿股直肌之解剖位置(綠色標記) (Porcine Myology, 2005)。

Figure 18 The anatomy section of *Rectus Femoris* in pig (green marked).



四、即時定量聚合酶鏈鎖反應(real-time PCR)分析

(一)肌肉組織總 RNA 抽取

試驗豬隻於屠宰剖半後，所採集之各部位肌肉樣本置入冷凍小管，投入液態氮中以急速冷凍並儲存於 -80°C 冰箱中，肌肉組織之總 RNA 以 Trizol 法萃取 RNA(Chomczynski and Sacchi, 1987)，其步驟如下。

- 1.約 1.5 克組織放入含有 500 μL Trizol reagent 之 2 mL eppendorf 中，均質後再加入 500 μL Trizol reagent。
- 2.加入 100 μL BCP。
- 3.劇烈搖晃 15 秒並靜置 5 分鐘使 Trizol 作用
- 4.在 4°C 下以 $14000 \times g$ 離心 15 分鐘。
- 5.將上清液移至新的 1.5 mL eppendorf 中。
- 6.重複 2 至 5 之步驟
- 7.加入異丙醇(isopropyl alcohol)於常溫靜置十分鐘，在 4°C 下以 $9500 \times g$ 離心 10 分鐘。
- 8.去除液體部分，以 70% 酒精洗滌 RNA。
- 9.在 4°C 下以 $9500 \times g$ 離心 5 分鐘。
- 10.重複 8 至 9 步驟，去除液體部分。
- 11.置於抽風櫃風乾一分鐘，加入 20 μL DEPC 水溶解 RNA。
- 12.儲存於 -80°C 冰箱中備用。

(二)反轉錄 DNA 之製備

所抽取之總 RNA 經微量分光光度計(Nanodrop)定量後，稀釋為 $1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 之濃度，取 4 μg RNA 加入 Bioline Reverse Transcription kit(Bioline, UK.)，最後以 DEPC 水定量至 20 μL ，進行反轉錄 DNA 之反應。



(三)引子設計

以 GenBank Primes Premier 軟體設計 *H-FABP*、*FAS*、*SREBP-1*、*HSL*、*CPT-1b*、*SCD*、*LDLR*、*Leptin* 及 *ATGL* 基因(表 3)。以 *HPRT1* 基因作為 internal control 之控制組，因其在肌肉中較其他常用之 housekeeping gene 有穩定的表現，故以 *HPRT1* 做為 internal control (Nygard *et al.*, 2006)。

(四)SYBR Green 法進行即時定量聚合酶鏈鎖反應

以 18 μL PCR 混合液，包括 10 μL 之 2x iQTM SYBR Green Fast supermix (Bioline, UK), 0.8 μL (10 mmol/L) 之前置引子(forward primer)與反置引子(reverse primer), 6.4 μL DEPC 水各加至 96 反應孔盤中，最後加入 2 μL 欲偵測樣本之互補 DNA(complementary DNA, cDNA)，於即時聚合酶連鎖反應儀(ABI StepOne plus, UK)，以二步驟法進行即時定量聚合酶連鎖反應。

(五)標準曲線定量

取欲偵測之各 cDNA 各 1 μL 於 PCR 小管中成 cDNA 混合液，進行四次五倍連續序列稀釋於各 PCR 小管中，而後取 2 μL 各管之 cDNA 混合液分別加入 96 反應孔盤中。

(六)統計分析

試驗過程所得資料，以統計分析軟體 SAS 9.3(SAS, 2013)，並以一般線性模式(general linear model procedure, GLM)設計統計模型如下所示，以進行變方分析(ANOVA)。因在試驗數據的收集上有諸多限制，以致資料數據為重複數不等之分

均衡資料(unbalanced data)，且獲得之試驗數據非為理想之線性模式，故以最小平方均值(least squares mean)及特奇公正顯著差異法(Tukey's honest significant difference)進行分析，分析其屠體性狀與豬種間脂質相關代謝基因表現之差異。



$$Y_{ijk} = \mu + B_i + S_j + (B*S)_{ij} + W_{ij} + e_{ijk}$$

Y_{ijkl} is the expression of each gene

μ is general mean

B_i is the fixed effect of breed

$i = 1, 2$ or 3 (KHAPS Black pig, exotic pig or black pig);

S_j is the fixed effect of sex, $j=1$ or 2 (barrow or gilt)

$(B*S)_{ij}$ is the interaction between breed and sex

W_{ij} is body weight as covariance.

e_{ijk} is the residue effect of the Y_{ijk} .



表 3 各脂質相關代謝基因引子序列

Table 3 The specific primer sequence of lipid metabolism-related genes

Gene	Primer sequence (5' → 3')	Accseeion number
<i>FAS</i>	F:AGC CTA ACT CCT CGC TGC AAT R:TCC TTG GAA CCG TCT GTG TTC	DQ845171
<i>SREBP-1c</i>	F:GCG ACG GTG CCT CTG GTA GT R:CGC AAG ACG GCG GAT TTA	AY183428
<i>H-FABP</i>	F:CAG GAA AGT CAA GAG CAC CA R:TCG GGA CAA TAC ATC CAA CA	AF102873
<i>HSL</i>	F:GCT CCC ATC GTC AAG AAT C R:TAA AGC GAA TGC GGT CC	AJ000482
<i>CPT-1B</i>	F:ATG GTG GGC GAC TAA CT R:TGC CTG CTG TCT GTG AG	AY181062
<i>SCD</i>	F:TCT GGG CGT TTG CCT ACT ATC T R:TCT TTG ACG GCT GGG TGT TT	AY487829
<i>ATGL</i>	F:AGT TCA GCC TGC GCA ACC TC R:AGG GCA CCA TCA TGG CTG	EF583921
<i>LDLR</i>	F:GTC AGC TGT GGC CGT TGT TAT CTT F:AAA GAA GCC ATA GAC CCA GTC CGT	BT007361
<i>Leptin</i>	F:CAA GAC GTG CTC CCA R:CCA ACT TCA TCG CTCA	NM_008493
<i>HPRT1</i>	F:GGA CTT GAA TCA TGT TTG TG R:CAG ATG TTT CCA AAC TCA AC	DQ845175



肆、結果與討論

一、結果

(一) 杜洛克與藍瑞斯脂質代謝相關基因表現比較

在杜洛克與藍瑞斯間，在兩個品種間三個肌肉部位的比較中，其脂質代謝相關基因表現沒有顯著的差異，而種內不同肌肉部位各基因表現有相似結果，如杜洛克與藍瑞斯其 *ATGL* 基因表現在 *MSC* 顯著高於 *MRF* ($P < 0.05$)，*FAS* 基因表現在 *MLD* 中顯著高於 *MRF* ($P < 0.05$) (表 4)，因種間的基因表現並沒有顯著差異不同 ($P > 0.05$)，所以我們將杜洛克與藍瑞斯整合為洋種豬之群組，以進行後續與高畜黑豬及民間黑豬之脂質代謝相關基因表現分析。

(二) 屠體性狀表現差異分析

屠體脂肪率、前端脂肪重、中端脂肪重與後端脂肪重在民間黑豬及板油重在民間黑豬為最高，次之為高畜黑豬，洋種豬則為最低 ($P < 0.05$)。洋種豬之瘦肉率、里肌肉重顯著高於高畜黑豬及民間黑豬 ($P < 0.05$)，而高畜黑豬與民間黑豬之間則沒有顯著差異，民間黑豬之梅花肉重顯著高於高畜黑豬及洋種豬，高畜黑豬及洋種豬間兩者沒有顯著差異，民間黑豬之後腿肉重顯著高於高畜黑豬 ($P < 0.05$)，但洋種豬與高畜黑豬及民間黑豬間均沒有顯著差異 (表 5)。

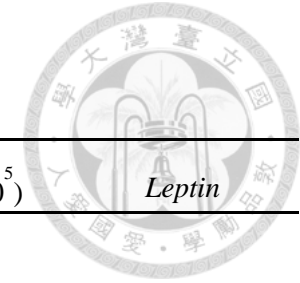


表 4 杜洛克與藍瑞斯其不同部位肌肉脂質代謝相關基因表現比較

Table 4 Lipid metabolism-related gene expression levels in different muscles of Duroc and Landrace pigs

Breed	Muscle	Gene	<i>ATGL</i>	<i>HSL</i>	<i>CPT1b</i>	<i>LDLR</i>	<i>SCD</i>	<i>H-FABP</i>	<i>SREBP1c</i>	<i>FAS</i> (x10 ⁵)	<i>Leptin</i>
Duroc											
	<i>MLD</i>		330±134 ^a	88±27	1703±696	28136±7647	64±25	778±233 ^a	135±25	8.9±5.0 ^a	2.7±1.6
	<i>MSC</i>		808±338 ^a	58±25	1041±374	11568±2774	32±10	1057±243 ^a	85±17	2.6±1.8 ^{a,b}	4.7±4.5
	<i>MRF</i>		95±34 ^b	26±6	404±183	46800±12743	30±8	47±6 ^b	66±13	1.0±0.5 ^b	8.9±6.3
Landrace											
	<i>MLD</i>		598±135 ^a	64±26	2948±702	44286±7930	42±24	1166±243 ^a	142±26	9.9±5.2 ^a	1.4±0.8 ^b
	<i>MSC</i>		456±41 ^a	32±24	992±378	14244±2799	23±10	778±245 ^a	60±17	3.5±1.8 ^{a,b}	5.8±4.7 ^{a,b}
	<i>MRF</i>		101±34 ^b	23±6	711±162	76670±12866	35±8	84±26 ^b	79±13	1.6±0.5 ^b	12.7±7.2 ^a

LSMean ±SE.

^{a,b} Within the same breed, LSMeans with different superscript are significantly different (P<0.05).

MLD: *M. longissimus dorsi*; *MRF*: *M. Rectus Femoris*; *MSC*: *M. Semispinalis Capitis*.

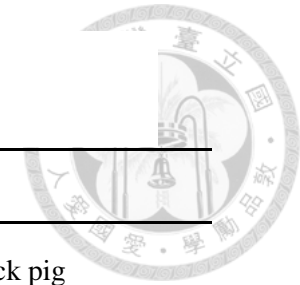
表 5 不同豬種之屠體性狀表現差異

Table 5 Different performance of carcass traits in different breed of pigs

Traits	Breed		
	KHAPS Black Pig	Exotic pig	Black pig
Backfat thickness, cm	2.47±0.12 ^a	2.09±0.15 ^b	3.07±0.34 ^a
Fat percent, %	17.28±0.73 ^b	12.00±0.86 ^c	19.09±0.19 ^a
Longissimus muscle weight, kg	2.64±0.17 ^b	4.31±0.21 ^a	3.18±0.45 ^b
Lean meat percent, %	45.71±0.62 ^b	50.00±0.73 ^a	44.02±1.60 ^b
Mid-portion fat weight, kg	3.08±0.15 ^b	1.68±0.18 ^c	4.44±0.41 ^a
Leaf fat, kg	0.90±0.05 ^b	0.42±0.04 ^c	1.55±0.06 ^a
Shoulder butt weight, kg	1.82±0.07 ^b	1.82±0.09 ^b	2.52±0.20 ^a
Forepart fat weight, kg	1.93±0.14 ^b	1.71±0.16 ^b	3.12±0.38 ^a
Ham weight, kg	6.65±0.22 ^b	7.35±0.26 ^{a,b}	7.56±0.59 ^a
Hind part fat weight, kg	2.21±0.11 ^b	1.11±0.12 ^c	3.15±0.29 ^a

LSMean±SE.

^{a,b,c} values in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05).





(三)不同豬種間其背最長肌(*MLD*)脂質代謝相關基因表現差異

洋種豬之脂質生成相關基因，包括 *SREBP1c* 與 *H-FABP* 的表現顯著低於高畜黑豬及民間黑豬($P<0.05$)，但高畜黑豬與民間黑豬間沒有顯著差異。而脂質氧化基因 *CPT1b* 則顯著高於高畜黑豬及民間黑豬，高畜黑豬及民間黑豬兩者間則沒有顯著差異，洋種豬之 *ATGL* 雖與高畜黑豬及民間黑豬沒有顯著差異，但仍達到了 $P<0.1$ 的水準(表 6)。

(四)不同豬種間其肩胛半棘肌(*MSC*)脂質代謝相關基因表現差異

洋種豬之脂質分解相關基因，包括 *ATGL* 與 *Leptin* 的表現顯著高於高畜黑豬以及民間黑豬($P<0.05$)，但高畜黑豬與民間黑豬兩者間沒有顯著差異。洋種豬之脂質生成相關基因，包括 *SREBP1c* 與 *H-FABP* 的表現顯著低於高畜黑豬及民間黑豬($P<0.05$)，但後兩者間沒有顯著差異，而高畜黑豬 *FAS* 表現顯著高於洋種豬($P<0.05$)，但與民間黑豬沒有顯著差異(表 7)。

(五)不同豬種間其後腿股直肌(*MRF*)脂質代謝相關基因表現之差異

高畜黑豬之脂質氧化基因 *CPT1b* 顯著高於洋種豬及民間黑豬($P<0.05$)，但洋種豬及民間黑豬兩者間沒有顯著差異，而民間黑豬其脂質生成相關基因 *SREBP1c* 顯著高於高畜黑豬及洋種豬($P<0.05$)，在高畜黑豬及洋種豬間沒有顯著差異，在脂肪酸轉運基因 *H-FABP* 表現方面，民間黑豬最高，高畜黑豬次之，洋種豬最低($P<0.05$)(表 8)。



(六) 豬種間不同部位肌肉脂質代謝相關基因表現之差異

在高畜黑豬中，*MRF* 之 *H-FABP*、*FAS* 與 *SREBP1c* 的表現顯著的低於背最長肌及半棘肌($P<0.05$)，背最長肌及半棘肌兩者並沒有顯著差異，*MRF* 之 *CPT1b* 表現則顯著高於 *MLD*，*MLD* 與 *MSC* 之 *ATGL* 表現顯著的高於 *MRF*($P<0.05$)，但 *MLD* 與 *MSC* 兩者間沒有顯著差異。在洋種豬中，*MRF* 之 *ATGL*、*H-FABP* 顯著低於 *MLD* 與 *MSC*($P<0.05$)，*MLD* 與 *MSC* 則有相似的表現，*MLD* 其 *FAS* 表現顯著高於 *MSC* 及 *MRF*($P<0.05$)，但 *MSC* 及 *MRF* 兩者間沒有顯著差異，而 *SREBP1c* 的表現於 *MLD* 最高，*MSC* 次之，*MRF* 最低($P<0.05$)，*MLD* 與 *MSC* 其 *Leptin* 表現顯著低於 *MRF*($P<0.05$)，但 *MSC* 及 *MLD* 兩者間沒有顯著差異，*FAS* 則在 *MLD* 中有最高的表現。在民間黑豬方面，*SREBP1c* 在 *MRF* 中有最高的表現($P<0.05$)，而 *MLD* 與 *MSC* 間沒有顯著差異，*MLD* 及 *MSC* 之 *H-FABP* 表現顯著高於 *MRF*($P<0.05$)，但 *MLD* 及 *MSC* 兩者間沒有顯著差異，*MLD* 其 *ATGL* 表現顯著高於 *MSC*($P<0.05$)，但 *MSC* 與 *MRF* 無顯著差異(表 9)。



表 6 高畜黑豬、洋種豬與民間黑豬之背最長肌脂質代謝相關基因表現

Table 6 Lipid metabolism-related gene expression levels in *MLD* of KHAPS Black pigs, exotic pigs and black pigs

Breed \ Gene	<i>ATGL</i>	<i>HSL</i>	<i>CPT1b</i>	<i>LDLR</i>	<i>SCD</i>	<i>H-FABP</i>	<i>SREBP1c</i>	<i>FAS</i> ($\times 10^5$)	<i>Leptin</i>
KHAPS Black Pig	351±226	53±33	706±386 ^b	1000±9675	80±32	1815±236 ^a	273±42 ^a	18.1±3.8	1.5±0.6
Exotic pig	727±238	87±35	2248±405 ^a	31246±9569	53±36	905±248 ^b	138±44 ^b	17.2±3.7	2.3±0.7
Black pig	421±291	90±43	1087±497 ^b	99658±11414	91±44	1203±303 ^a	154±54 ^{a,b}	6.3±2.1	1.5±0.7

LSMean ±SE.

^{a,b} Within the same breed, LSMeans with different superscripts are significantly different (P<0.05).

MLD: *M. longissimus dorsi*.

表 7 高畜黑豬、洋種豬與民間黑豬之肩胛半棘肌脂質代謝相關基因表現

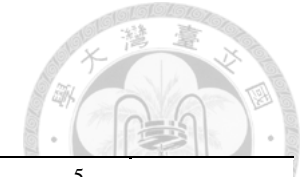


Table 7 Lipid metabolism-related gene expression levels in *MSC* of KHAPS Black pigs, exotic pigs and black pigs

Breed \ Gene	<i>ATGL</i>	<i>HSL</i>	<i>CPT1b</i>	<i>LDLR</i>	<i>SCD</i>	<i>H-FABP</i>	<i>SREBP1c</i>	<i>FAS</i> (x10 ⁵)	<i>Leptin</i>
KHAPS Black Pig	186±112 ^b	40±17	1651±395	45398±6223	94±23	1979±369 ^a	369±35 ^a	10.0±1.6 ^a	1.2±1.5 ^b
Exotic pig	838±138 ^a	58±17	999±415	13641±6531	37±24	1170±388 ^b	62±37 ^b	2.1±1.6 ^b	6.9±1.3 ^a
Black pig	92±139 ^b	24±21	1269±509	38718±7999	65±11	2124±501 ^a	82±45 ^b	2.2±1.7 ^{a,b}	1.3±1.7 ^b

LSMean±SE.

^{a,b} Within the same breed, LSMeans with different superscripts are significantly different (P<0.05).

M.SC : *M. Semispinalis Capitis*.



表 8 高畜黑豬、洋種豬與民間黑豬後腿股直肌之脂質代謝相關基因表現

Table 8 Lipid metabolism-related gene expression levels in *MRF* of KHAPS Black pigs, exotic pigs and black pigs

Breed \ Gene	<i>ATGL</i>	<i>HSL</i>	<i>CPT1b</i>	<i>LDLR</i>	<i>SCD</i>	<i>H-FABP</i>	<i>SREBP1c</i>	<i>FAS</i> (x10 ⁵)	<i>Leptin</i>
KHAPS Black Pig	73±50	18±12	3642±635 ^a	39835±13551	89±19	657±278 ^a	73±29 ^b	1.2±0.4	2.4±1.9 ^b
Exotic pig	157±47	22±11	423±759 ^b	43620±14224	31±19	38±292 ^b	65±31 ^b	0.6±0.4	15.6±2.0 ^a
Black pig	177±61	42±17	1309±841 ^b	83920±17421	45±23	705±358 ^a	322±38 ^a	0.5±0.5	1.1±2.5 ^b

LSMean ±SE.

^{a,b} Within the same breed, LSM means with different superscripts are significantly different (P<0.05).

MRF : *M. Rectus Femoris*.

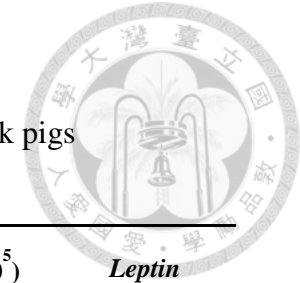


表 9 高畜黑豬、洋種豬與民間黑豬種間不同部位肌肉之脂質代謝相關基因表現

Table 9 Lipid metabolism-related gene expression levels in different muscles of KHAPS Black pigs, exotic pigs and black pigs

Breed	Muscle	Gene	<i>ATGL</i>	<i>HSL</i>	<i>CPT1b</i>	<i>LDLR</i>	<i>SCD</i>	<i>H-FABP</i>	<i>SREBP1c</i>	<i>FAS</i> (x10 ⁵)	<i>Leptin</i>
KHAP Black Pig											
	<i>MLD</i>		351±226 ^a	53±33	706±386 ^b	1000±9675	80±32	1815±236 ^a	273±42 ^a	18.1±3.8 ^a	1.5±0.6
	<i>MSC</i>		186±112 ^a	40±17	1651±395 ^a	45398±6223	94±23	1979±369 ^a	369±35 ^a	10.0±1.6 ^a	0.2±1.5
	<i>MRF</i>		73±50 ^b	18±12	3642±635 ^b	39835±13551	89±19	657±278 ^b	73±29 ^b	1.2±0.4 ^b	2.4±1.9
Exotic pig											
	<i>MLD</i>		727±238 ^a	87±35	2248±405	31246±9569	53±36	905±248 ^a	138±44	17.2±3.7 ^a	2.3±0.7 ^b
	<i>MSC</i>		838±138 ^a	58±17	999±415	13641±6531	37±24	1170±388 ^a	62±37	2.1±1.6 ^b	6.9±1.3 ^a
	<i>MRF</i>		157±47 ^b	22±11	423±759	43620±14224	31±19	38±292 ^b	65±31	0.6±0.4 ^b	15.6±2.0 ^a
Black pig											
	<i>MLD</i>		421±291 ^a	90±43	1087±497	99658±11414	91±44	1203±303 ^a	154±54 ^b	6.3±2.1 ^a	1.5±0.7
	<i>MSC</i>		92±139 ^b	24±21	1269±509	38718±7999	65±11	2124±501 ^a	82±45 ^b	4.2±1.7 ^a	1.3±1.7
	<i>MRF</i>		177±61 ^{a,b}	42±17	1309±841	83920±17421	45±23	705±358 ^b	322±38 ^a	0.5±0.5 ^b	1.1±2.5

LSMean ±SE.

^{a,b} Within the same breed, LSMeans with different superscripts are significantly different (P<0.05).

MLD: *M. longissimus dorsi* ; *MSC* : *M. Semispinalis Capitis*; *MRF* : *M. Rectus Femoris*.



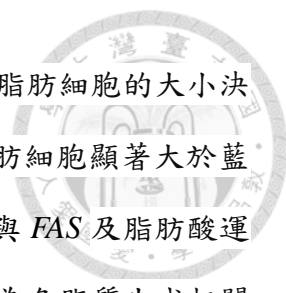
二、討論

三酸甘油酯佔了肌內脂肪 90% 以上的比例，而三酸甘油酯的累積受到脂質相關代謝基因表現的調控，其藉由代謝酵素及各功能性基因的共同運作，包含了脂質生成相關基因 (lipogenic genes)、脂肪酸運送基因 (fatty acid transporting genes)、脂質分解基因 (lipolytic genes)、脂肪酸氧化基因 (fatty acid oxidative genes)、脂肪酸去飽和基因 (desaturated fatty acid gene)，並行脂質生成 (lipogenesis) 以及脂質分解 (lipolysis)，因此不同速率的脂質生成或分解決定了三酸甘油酯的累積與否。

(一) 脂質代謝相關基因表現與 IMF 累積研究探討

烏京豬為一高脂肪累積之豬種，其 IMF 的含量顯著高於藍瑞斯，Zhao *et al.* (2009) 以烏京豬與藍瑞斯之 *MLD* 進行之脂質代謝相關基因表現比較，脂質代謝相關基因包括脂質分解相關基因 *ATGL*、*HSL* 與 *CPT1b*，脂肪酸運送基因 *A-FABP* 與 *H-FABP*，脂質生成基因 *SREBP1c* 與 *FAS* 及脂肪酸去飽和基因 *SCD*，結果顯示，烏京豬之脂質分解相關基因 *ATGL*、*HSL* 與 *CPT1b*，脂肪酸運送基因 *A-FABP* 與 *H-FABP*、脂質生成基因 *SREBP1c* 與 *FAS* 及脂肪酸去飽和基因 *SCD* 之基因表現皆顯著高於藍瑞斯 ($P < 0.05$)。Campion *et al.* (1983) 指出高脂肪累積豬種其肌肉之三酸甘油酯含量會高於瘦肉型豬種，隨著細胞內游離脂肪酸與三酸甘油酯含量提高，IMF 也會隨之升高 (Fernandez *et al.*, 1999)。

在烏京豬脂肪細胞內游離脂肪酸中，其單元不飽和脂肪酸與多元不飽和脂肪酸顯著高於藍瑞斯 ($P < 0.05$)，烏京豬 *SCD* 表現顯著高於藍瑞斯，*SCD* 能在棕櫚酸之 9 號與 10 號碳間形成雙鍵而生成棕櫚油酸，棕櫚油酸為形成各種多元不飽和脂肪



酸之關鍵產物，因此 *SCD* 的表現可能是造成此種現象的原因。脂肪細胞的大小決定了脂肪細胞內脂質含量的多寡，此研究團隊發現烏京豬的脂肪細胞顯著大於藍瑞斯($P < 0.05$)，認為其與烏京豬其脂質生成相關基因 *SREBP1c* 與 *FAS* 及脂肪酸運輸基因 *A-FABP* 及 *H-FABP* 表現顯著高於藍瑞斯有關。*SREBP1c* 為各脂質生成相關基因主要的調節轉錄因子，能夠提高其下游基因的表現而增進細胞內脂肪酸的合成(Horton et al., 2002)，*FAS* 基因的表現高低則能直接調節細胞內脂肪酸的合成。*A-FABP* 及 *H-FABP* 主要負責細胞內脂肪酸的運輸，其中 *H-FABP* 能在心臟及骨骼肌細胞中，配合脂肪酸轉運體將脂肪酸從胞外攝取至胞內，並增進脂肪細胞的大小(Li et al., 2007)。*HSL* 主要作用則為將二酸甘油酯(DAG)水解，有研究發現，*HSL* 缺失(*HSL*^{-/-})小鼠並不會造成肥胖，同時 *HSL*^{-/-} 小鼠細胞仍有三酸甘油酯解酶的活性，而 *ATGL* 是近年新發現調控脂質小滴(lipid droplet)分解的起始水解酶，有研究發現，*ATGL* 失去功能後，會顯著增加非脂肪細胞中脂質油滴的累積，而過量表現的 *ATGL* 也會顯著減少細胞內脂質油滴的大小(Smirnova et al., 2005)。*CPT1b* 蛋白能增加細胞進行 β 氧化的能力，有研究發現當 *CPT1b* 低表現時會使得肌內脂肪顯著地增加($P < 0.05$) (Huang et al., 2009)。因此研究團隊認為烏京豬脂質分解相關 *ATGL* 及 *HSL*，脂質氧化基因 *CPT1b* 的低表現會導致烏京豬其脂質分解能力低於藍瑞斯，而脂質生成相關基因 *SREBP1c* 及 *FAS*，脂肪酸運輸基因 *A-FABP* 及 *H-FABP* 的高表現使烏京豬脂質生成能力高於藍瑞斯。而相對於烏京豬，高畜黑豬為杜洛克與梅山豬雜交選育之品系，其中一部分的選育目的為增進豬隻生長速度，故與烏京豬相比，其脂質生成代謝相關基因表現可能低於烏京豬，但豬隻生長速度高於烏京豬。Fernandez et al.(1999) 以藍瑞斯與杜洛克雜交豬(Landrace X Duroc)及梅山豬與藍瑞斯豬雜交種(Meishan X Landrace)，結果發現，梅山豬與藍瑞斯雜交種其 IMF 含量顯著高於藍瑞斯與杜洛克雜交豬($P < 0.05$)。在屠宰上也常發現高畜黑豬其 IMF 含量高於洋種豬(黃, 2011)，因此我們期以利用不同豬種之

脂質代謝相關基因不同的表現模式，來預測 IMF 累積之潛能。



(二) *MLD* 與 *MSC* 脂質相關代謝基因表現模式

由實驗結果我們發現，不同豬種在 *MLD* 與 *MSC* 上其脂質代謝相關基因皆有類似的表現模式，其脂質生成相關基因 *H-FABP*、*SREBP1c* 皆在洋種豬中有最低的表現、而脂質分解相關基因如 *ATGL*、*Leptin* 則有最高量的表現。根據前人以烏京豬及藍瑞斯探討脂質代謝相關基因對於 IMF 累積的影響，高度表現脂質生成相關基因，及低度表現脂質分解相關基因的模式會增加肌內脂肪累積的潛能，我們推論，在洋種豬之 *MLD* 與 *MSC* 脂質代謝相關基因表現模式中，因為 *ATGL* 持續高度表現，不斷起始了脂質小滴之分解，而 *Leptin* 與細胞膜上受體結合後，啟動 AMPK 磷酸化 ACC 而抑制了 malonyl-CoA 的生成，此時因 *SREBP1c* 與 *H-FABP* 的低度表現，使脂質小滴分解釋出之游離脂肪酸，傾向於進行 β 氧化作用而減少細胞內脂質的累積(圖 16)，因而造成洋種豬相對於高畜黑豬及民間黑豬不易累積肌肉脂肪。

(三) *MRF* 脂質相關代謝基因表現模式

在 *MRF* 中，脂質相關代謝基因之表現模式隨著豬種不同而異，因股直肌位於豬隻後腿部位，其生理功能異於肩胛及體軀的。IMF 是骨骼肌中的最主要的能量來源，與哺乳動物進行運動時的耐受力有關(Weber and Haman, 2004)，運動時會消耗肝醣(glycogen)與 IMF 產生能量，而一段時間不進行運動後，肝醣與 IMF 便會重新累積(Horowitz, 2003; Manini *et al.*, 2007)。產肉動物肌肉中 IMF 累積速度會隨著累積量越高以後漸慢，其因不同的肌肉型態所導致。在產肉動物高活動的肌肉中，糖解作用與脂解作用較旺盛，因此肌內脂肪累積較緩慢；而在軀體肌肉中，

糖解作用與脂解作用表現較低，導致肌內脂肪累積則較迅速(Hocquette *et al.*, 2009)。因此，我們推論，當此類肌肉 IMF 累積到達一定程度時，因生理傾向於進行高糖解及脂解作用提供能量，會加速 IMF 之 β 氧化，其為高畜黑豬 *CPT1b* 表現極高的原因。洋種豬之 *Leptin* 高表現使得 AMPK 機制活化，磷酸化 ACC 而抑制 malonyl-CoA 的生成，而 *H-FABP* 減少不僅導致游離脂肪酸形成脂質的能力下降，也影響攜帶游離脂肪酸至 *CPT1b* 作用，進入粒線體內膜的進行 β 氧化的途徑(圖 17)。

(四)不同豬種間脂質代謝相關基因表現之差異性

在統計結果上發現，洋種豬 *MRF* 之 *H-FABP* 及 *CPT1b*，民間黑豬 *MSC* 與 *MRF* 之 *Leptin* 與高畜黑豬 *MSC* 之 *Leptin* 表現，其最小平方均值小於標準誤差(stand error)。因最小平方均值法是將不同豬種放入同一個模型中比較，而平均化了標準誤差，若各豬種間之基因表現差距極大時，就可能出現此種結果。敘述性統計(descriptive statistics)為敘述樣本中集中程度及離散趨勢的基本統計模式，能呈現樣本資料型態、極端值、變異程度。在敘述性統計中我們可看出，黑豬與洋種豬其 *MRF* 之 *H-FABP* 平均表現及標準差差距極大，因而當以最小平方均值法進行比較時，便拉高原本洋種豬的標準誤差，而降低了黑豬的標準誤差(表 10; 表 11; 表 12)。

(五)屠體性狀與基因表現探討 IMF 累積潛力

洋種豬之平均背脂厚度、脂肪率、前端脂肪重、中端脂肪重與後端脂肪重皆顯著小於高畜黑豬及洋種豬，顯示洋種豬其脂質含量低於高畜黑豬及民間黑豬，肌間脂肪、皮下脂肪及背脂厚度兩者與 IMF 的含量有正相關(Kouba *et al.*, 1999; Suzuki *et al.*, 2005)，而石(2007)也指出非黑豬豬種其背脂厚度低於黑豬豬種，脂

質生成相關基因表現的減少與脂質分解相關基因表現的增加，造成肌肉內脂質合成的減少，可能是影響 IMF 累積的因子(Zhao *et al.*, 2009)，因此我們推論洋種豬其 IMF 累積潛力低於高畜黑豬及民間黑豬。

民間黑豬之中端脂肪重、前端脂肪重與後端脂肪重與梅花肉重顯著高於高畜黑豬($P<0.05$)，但民間豬黑與高畜黑豬其脂肪率與瘦肉率沒有顯著差異，而一般民間黑豬飼養天數長，皮下脂肪與肌間脂肪會隨著飼養天數增長而增加，Tyra *et al.*(2012)指出，里肌與後腿部位其脂肪含量隨著飼養天數增長而極顯著的增加($P<0.001$)，對於 IMF 累積則略為顯著的影響($P<0.05$)。然而，高畜黑豬與民間黑豬其脂質代謝相關基因有相似的表現，根據上述，我們推論高畜黑豬與民間黑豬應有相似之 IMF 累積潛力，臺灣民間養豬場所飼養之黑豬飼養管理及上市體重與日齡均無標準(陳，2007)，而民間黑豬總脂肪含量高應是由於一般民間豬場及消費喜好較高體重之黑豬，而造成飼養天數高所導致。

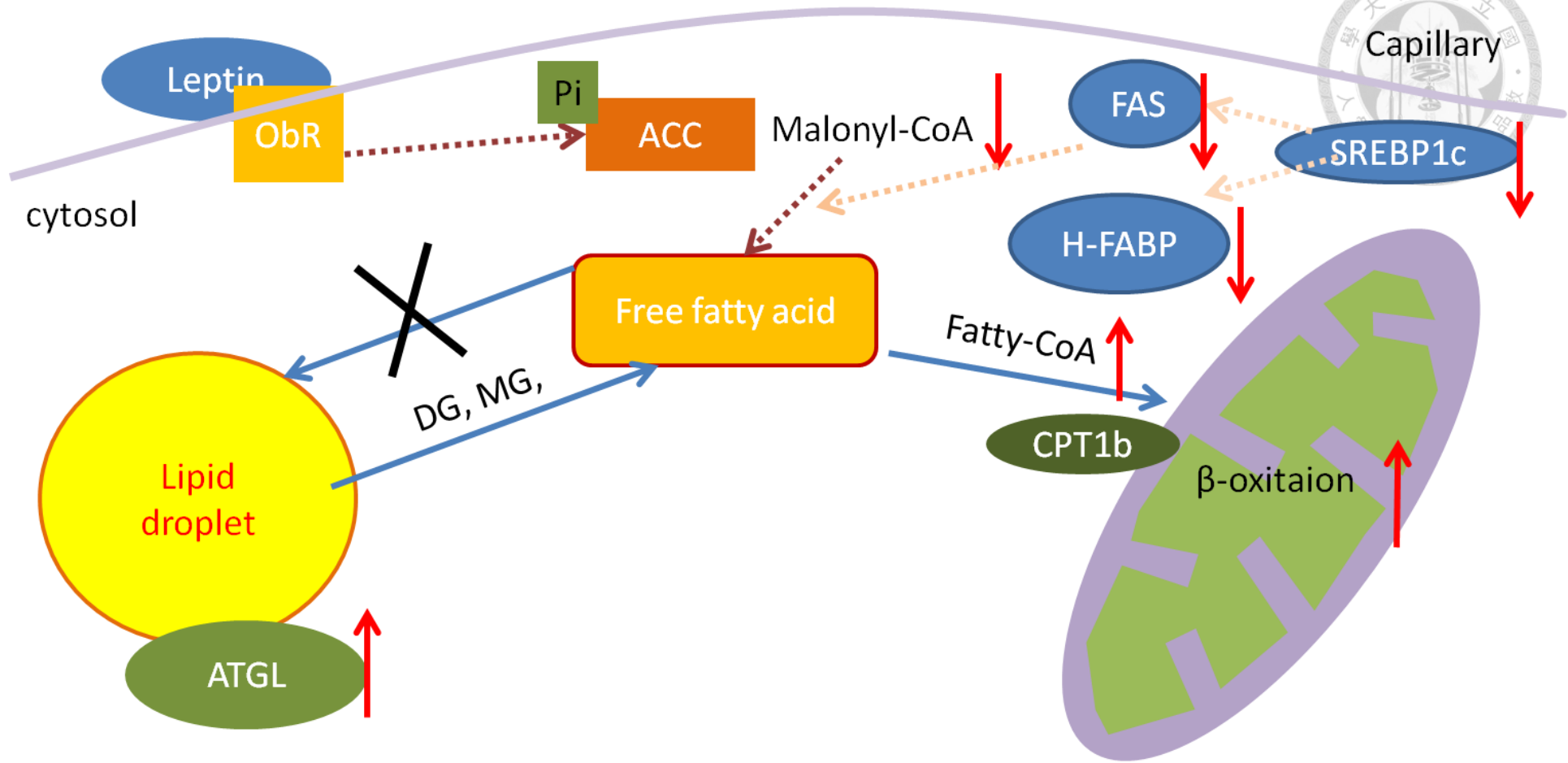


圖 19 洋種豬背最長肌與半棘肌之脂質代謝相關基因表現模式。

Figure 19 The expressions of lipid metabolism-related gene in *MLD* and *MSC* of exotic pig.

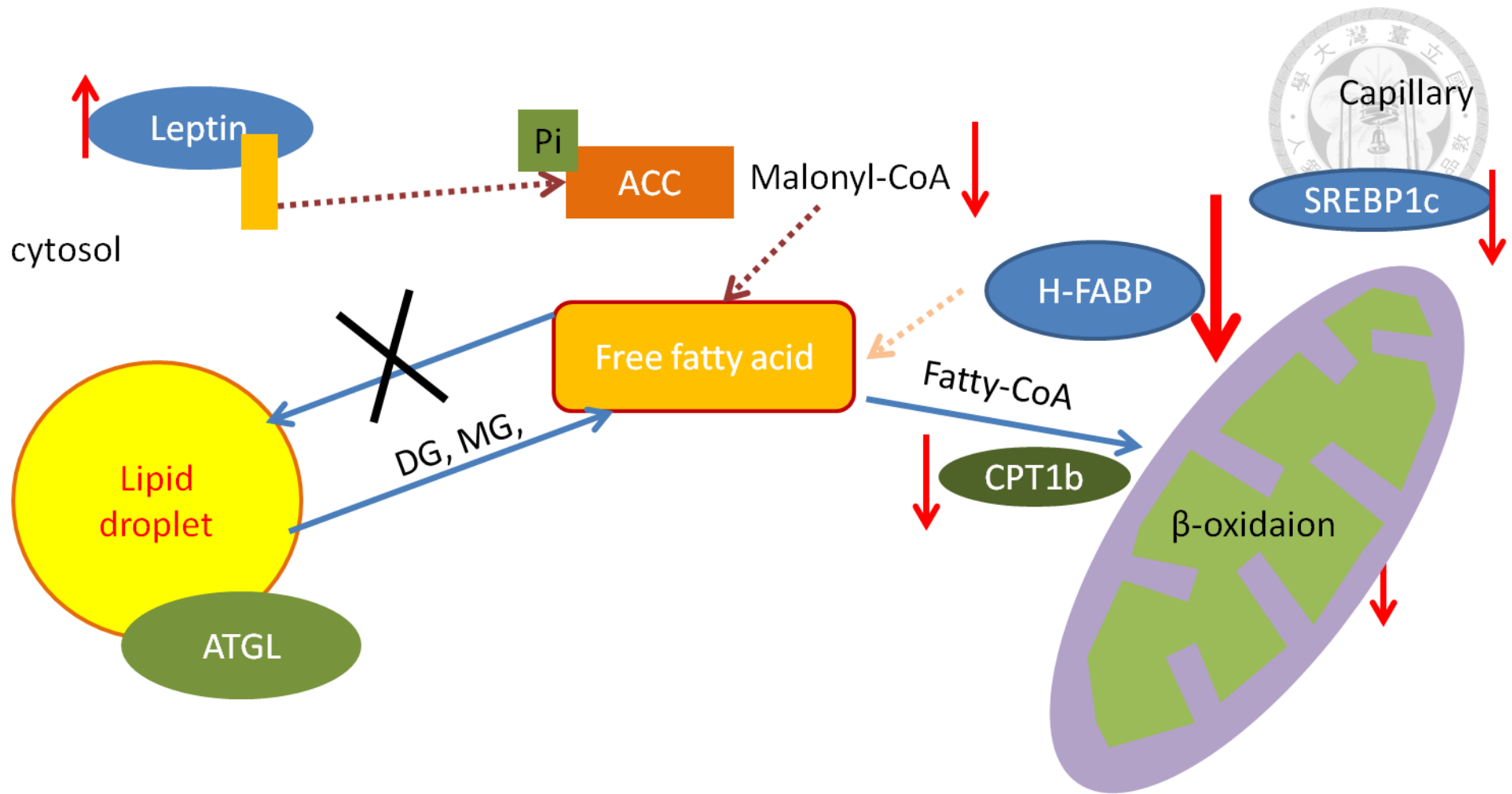


圖 20 洋種豬股直肌之脂質代謝相關基因表現模式。

Figure 20 The expressions of lipid metabolism-related gene in *MRF* of exotic pig.



表 10 高畜黑豬脂質代謝相關基因表現之敘述性統計

Table 10 The lipid metabolism-related genes descriptive statistic of KHAPS Black Pig

	<i>MLD</i>					<i>MSC</i>					<i>MRF</i>				
	Mean	SD	Min.	Max.	C.V.	Mean	SD	Min.	Max	C.V.	Mean	SD	Min.	Max	C.V.
<i>ATGL</i>	352	159	261	702	0.45	179	84	35	465	0.46	113	31	61	246	0.27
<i>HSL</i>	66	52	12	154	0.79	37	16	14	56	0.43	26	11	5	141	0.42
<i>CPT1b</i>	734	623	132	1435	0.84	1920	1308	617	5942	0.68	3744	2235	1080	7985	0.60
<i>H-FABP</i>	1833	962	696	4614	0.52	1911	958	3825	1021	0.50	852	727	162	2726	0.85
<i>SCD</i>	76	31	5	303	0.40	92	67	31	370	0.72	144	110	51	390	0.76
<i>FAS(x10⁵)</i>	17.6	8.1	4.3	26.2	0.46	10.0	7.7	2.3	25.5	0.77	1.2	0.9	0.3	3.1	0.75
<i>SREBP1c</i>	274	162	83	566	0.59	375	184	125	654	0.49	98	91	42	417	0.92
<i>Leptin</i>	1.5	0.8	0.5	3.2	0.52	0.2	0.1	0.1	0.3	0.5	2.3	1.1	0.8	3.1	0.47
<i>LDLR</i>	4367	2201	1723	9295	0.50	44931	24304	12169	85855	0.54	49428	31898	9692	92950	0.64

MLD: *M. longissimus dorsi* ; *MSC*: *M. Semispinalis Capitis*; *MRF*: *M. Rectus Femoris*.

SD: Stand deviation ; Min: Minimum; Max: Maximum; C.V.: Coefficient of Variation.



表 11 洋種豬脂質代謝相關基因表現之敘述性統計

Table 11 The lipid metabolism-related genes descriptive statistic of exotic pig

	<i>MLD</i>					<i>MSC</i>					<i>MRF</i>				
	Mean	SD	Min.	Max.	C.V.	Mean	SD	Min.	Max	C.V.	Mean	SD	Min.	Max	C.V.
<i>ATGL</i>	740	493	244	1832	0.66	820	577	376	2460	0.70	155	68	78	324	0.44
<i>HSL</i>	97	56	39	197	0.57	59	31	33	191	0.52	23	14	6	43	0.60
<i>CPT1b</i>	2427	1465	808	4925	0.60	931	541	263	2193	0.58	635	264	311	1084	0.42
<i>H-FABP</i>	972	485	213	176	0.49	1192	548	282	2253	0.46	63	45	13	144	0.71
<i>SCD</i>	51	39	10	138	0.76	38	19	8	90	0.5	27	7	15	36	0.26
<i>FAS(x10⁵)</i>	16.6	7.2	3.3	20.2	0.43	2.6	1.7	0.9	7.2	0.65	0.7	0.52	0.1	1.7	0.74
<i>SREBP1c</i>	139	56	19	216	0.40	68	40	10	162	0.58	64	17	46	97	0.27
<i>Leptin</i>	2.4	1.7	1.3	5.2	0.70	6.8	4.9	3.27	25.9	0.72	14.9	8.7	4.9	33.9	0.58
<i>LDLR</i>	36211	19565	9983	89091	0.54	13954	6494	5893	23954	0.46	48930	21297	6085	99891	0.44

MLD: *M. longissimus dorsi* ; *MSC*: *M. Semispinalis Capitis*; *MRF*: *M. Rectus Femoris*.

SD: Stand deviation ; Min: Minimum; Max: Maximum; C.V.: Coefficient of Variation.



表 12 民間黑豬脂質代謝相關基因表現之敘述性統計

Table 12 The lipid metabolism-related genes descriptive statistic of black pig

	<i>MLD</i>					<i>MSC</i>					<i>MRF</i>				
	Mean	SD	Min.	Max.	C.V.	Mean	SD	Min.	Max	C.V.	Mean	SD	Min.	Max	C.V.
<i>ATGL</i>	396	259	233	1124	0.65	109	82	43	295	0.75	202	149	53	361	0.73
<i>HSL</i>	96	60	41	219	0.62	65	49	19	121	0.75	42	22	14	72	0.52
<i>CPT1b</i>	994	249	512	1308	0.25	1307	970	557	3267	0.74	1271	622	23	2379	0.49
<i>H-FABP</i>	1165	669	566	2665	0.57	2135	973	933	3481	0.46	762	462	241	1226	0.60
<i>SCD</i>	91	68	12	198	0.74	96	57	59	256	0.59	68	54	38	169	0.79
<i>FAS(x10⁵)</i>	6.2	2.7	2.3	10.2	0.43	4.4	3.1	1.7	8.3	0.70	0.8	0.6	0.4	1.6	0.75
<i>SREBP1c</i>	168	122	23	512	0.72	86	31	53	139	0.36	342	143	100	554	0.42
<i>Leptin</i>	1.6	1.4	0.6	2.9	0.87	1.2	0.9	0.6	2.3	0.75	1.1	0.8	0.3	1.5	0.72
<i>LDLR</i>	92050	41856	40057	150987	0.52	4219	21911	9384	73462	0.52	76422	35541	23450	99263	0.47

MLD: *M. longissimus dorsi* ; *MSC*: *M. Semispinalis Capitis*; *MRF*: *M. Rectus Femoris*.

SD: Stand deviation ; Min: Minimum; Max: Maximum; C.V.: Coefficient of Variation.



伍、結論

根據高畜黑豬、民間黑豬與洋種豬的脂質代謝相關基因表現與屠體性狀，我們推論高畜黑豬與民間黑豬其在背最長肌、肩胛與後腿的IMF累積潛力高於洋種豬，而無論是黑豬或洋種豬，肩胛與背最長肌 IMF 潛力應高於後腿。脂質相關代謝基因表現無論是在黑豬或洋種豬的背最長肌與肩胛部位中，其皆有相類的表現，而在後腿部位則無一致的基因表現，因此以脂質代謝相關基因表現預測不同豬種的IMF 累積潛力，推測背最長肌與肩胛應是較合適的部位選擇。

高畜黑豬與一般民間黑豬在其脂質代謝相關基因有相似的表現，但仍須更多資訊，如一般化學成分分析以進行更深入的探討，因高畜黑豬與一般民間黑豬其脂質代謝相關基因表現相似。然而，民間黑豬其飼養管理與日齡目前仍無標準可參考，而高畜黑豬有穩定的遺傳組成、飼養管理及日齡的標準，因此高畜黑豬在經濟上仍較民間黑豬為一個適合養豬戶飼養之品系。



陸、參考文獻

- 石憲諭。2007。台灣黑豬屠體與肉質性狀之探討。碩士論文。國立屏東科技大學畜產學研究所。屏東縣。
- 行政院農業委員會統計室。2010。臺灣地區養豬頭數調查報告。行政院農業委員會。台北市。
- 行政院農業委員會統計室。2012。農業統計年報。行政院農業委員會。台北市。
- 宋永義、李登元、劉瑞珍、陳聯民、黃添美、徐淑芳。1988。改良臺灣小耳種豬為實驗動物。第一屆家畜遺傳育種研討會專輯。第119~134頁。台南市。
- 呂秀英。2010a。超級市場影響消費者購買黑豬肉之因素分析與相關性檢定。臺灣銀行季刊 61(1)：130-154。
- 呂秀英。2010b。影響傳統市場消費者購買黑豬肉之因素分析與相關性檢定。臺灣銀行季刊 61(3) 137-159。
- 黃存厚。2011。高畜黑豬加工與利用。臺灣農畜產工業股份有限公司。屏東市。
- 許晉賓、張仲、詹熾熔、黃憲榮、王治華、涂海南、陳佳萱、吳明哲、張秀鑾、王政騰。2011。多產豬種之選育：I.高畜黑豬之性能。畜產研究 44(2)：139-152。
- 張秀鑾、鄒會良、池雙慶。2001。品種與遺傳改良。畜牧要覽養豬篇增修版。第36-45頁。中國畜牧學會。華香園出版社，台北市。
- 陳文賢、吳祥雲、涂榮珍、紀學斌。2007。黑豬肉質特性及感官品評探討。畜產研究 40(4)：241-248。
- 陳文賢、陳義雄、李茂盛。2001。桃園仔豬與梅山仔豬供作烘烤乳豬及成豬肉質性狀分析。畜產研究 34(1)：13-20。
- 陳怡蓁。2007。臺灣黑豬屠體性狀與體型及遺傳變異相關之分析。碩士論文。國立臺灣大學動物科學技術學研究所。台北市。
- 廖宗文、蔡金生、劉建甫、蘇天明。2004。增加母豬懷孕後期飼料餵量對畜試黑豬一號繁殖性能效果評估。畜產研究 37(2)：205-210。
- 戴謙、張秀鑾、黃鈺嘉、顏念慈。1997。臺灣本地種之性能及種原利用。畜產研究 30(3)：215-229。
- 顏念慈、李恆夫、蘇天明、蘇清全、吳淑芬、劉建甫、蔡金生、謝昭賢、廖宗文、張秀鑾、



- 吳明哲、王政騰。2001。畜試黑豬一號繁殖。行政院農委會畜產試驗所。台南市。
- 顏念慈、蔡金生、蘇天明、劉建甫、李茂盛、陳添福、黃鈺嘉、陳義雄、張秀鑾、戴謙、池雙慶。2003。梅山豬經濟性能之初期觀察。畜產研究 36(3)：233-244。
- Andrews, D. L., B. Beames, M. D. Summers, and D. W. Park 1988. Characterization of the lipid acyl hydrolase activity of the major potato (*Solanum tuberosum*) tuber protein, patatin, by cloning and abundant expression in a baculovirus vector. *J. Biol. Chem.* 252: 199-206.
- Bejerholm, C., and P. Barton-Gade. 1986. Effect of intramuscular fat level on eating quality of pig meat. Page 389-391 in Proc. 30th Europ. Meet. Meat Res. Workers, Bristol, UK..
- Campbell, S. E., N. N. Tandon, G. Woldegiorgis, J. J. Luiken, J. F. Glatz, and A. Bonen. 2004. A novel function for fatty acid translocase (FAT)/CD36 involvement in long chain fatty acid transfer into the mitochondria. *J. Biol. Chem.* 279: 36235-36241.
- Chomczynski, P., and N. Sacchi. 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 162: 156-159.
- Dobrzyn, A., and P. Dobrzyn. 2006. Stearoyl-CoA desaturase—a new player in skeletal muscle metabolism regulation. *J. Physiol. Phar.* 57: 31-42.
- Faucitano, L., J. Rivest, J. P. Daigle, J. Lévesque, and C. Gariépy. 2004. Distribution of intramuscular fat content and marbling within the *longissimus* muscle of pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 84: 57-61.
- Fernandez, X., G. Monin, A. Talmant, J. Mourot, and B. Lebret. 1999. Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat—1. Composition of the lipid fraction and sensory characteristics of m. *longissimus lumborum*. *Meat Sci.* 53: 59-65.
- Fredrickson, D. S., R. I. Levy, and R. S. Lees. 1967. Fat transport in lipoproteins—an integrated approach to mechanisms and disorders. *New England J. Med.* 276: 34-44.
- Fulmer, W., and S. Writer. 2009. Not so FAS. *SciBX.* 2: (11); doi:10.1038/scibx.2009.430.
- Gao, S. Z., and S. M. Zhao. 2009. Physiology, affecting factors and strategies for control of pig meat intramuscular fat. *Recent Pat. Food Nutr. Agric.* 1: 59-74.

Gerbens, F., G. Rettenberger, J. A. Lenstra, J. H. Veerkamp, and M. F. te Pas. 1997. Characterization, chromosomal localization, and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein gene. *Mamm. Genome* 8: 328-332.



Gerbens, F., D. J. De-Koning, F. L. Harders, T. H. Meuwissen, L. L. Janss, M. A. Groenen, and M. F. te Pas. 2000. The effect of adipocyte and heart fatty acid-binding protein genes on intramuscular fat and backfat content in Meishan crossbred pigs. *J. Anim. Sci.* 78: 552-559.

Gotthardt, M., M. Trommsdorff, M. F. Nevitt, J. Shelton, J. A. Richardson, W. Stockinger, and J. Herz. 2000. Interactions of the low density lipoprotein receptor gene family with cytosolic adaptor and scaffold proteins suggest diverse biological functions in cellular communication and signal transduction *J. Biol. Chem.* 275: 25616-25624.

Granneman, J. G., H. H. P. Moore, L. G. Rachel, A. S. Greenberg, and Z. Zhu. 2007. Analysis of lipolytic protein trafficking and interactions. *J. Biol. Chem.* 282: 5726-5735.

Guillet-Deniau, I., A. L. Pichard, A. Koné, C. Esnous, M. Nieruchalski, J. Girard, and C. Prip-Buus. 2004. Glucose induces de novo lipogenesis in rat muscle satellite cells through a sterol-regulatory-element-binding-protein-1c-dependent pathway. *J. Cell Sci.* 117: 1937-1944.

Hertzel V. A., and A. D. Bernlohr. 2000. The mammalian fatty acid-binding protein multigene family: molecular and genetic insights into function. *Trends Endocrin. Met.* 11: 175-180.

Hocquette, J. F., F. Gondret, E. Baéza, F. Médale, C. Jurie, and D. W. Pethick. 2010. Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. *Animal* 4: 303-319.

Horton, J. D., J. L. Goldstein, and S. M. Brown. 2002. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J. Clin. Invest.* 109: 1125-1131.

Horowitz, J. F. 2003. Fatty acid mobilization from adipose tissue during exercise. *Trends Endocrinol. Metab.* 14: 386-392.

Huang, Q. C., X. Y. Han, Z. R. Xu, X. Y. Yang, T. Chen, and X. T. Zheng. 2009. Betaine suppresses carnitine palmitoyltransferase I in skeletal muscle but not in liver of finishing pigs. *Livest. Sci.* 126: 130-135.

Jones, S. J., A. Guru, V. Singh, and T. F. Jones. 2005. Porcine Myology (software available from <http://porcine.unl.edu>). University of Nebraska, Lincoln/National Pork Board. USA.

Kim, J. B., P. Sarraf, M. Wright, K. M. Yao, E. Mueller, G. Solanes, and B. M. Spiegelman. 1998. Nutritional and insulin regulation of fatty acid synthetase and leptin gene expression through ADD1/SREBP1. *J. Clin. Invest.* 101: 1-9.

Kinyamu H. K., and R. C. Ewan. 1994. Energy and protein metabolism of the Chinese pig. *J. Anim. Sci.* 72: 2068-2074.

Kouba, M., M. Bonneau, and J. Noblet. 1999. Relative development of subcutaneous, intermuscular, and kidney fat in growing pigs with different body compositions. *J. Anim. Sci.* 77: 622-629.

Kraemer, F. B., and W. J. Shen. 2002. Hormone-sensitive lipase control of intracellular tri-(di-)acylglycerol and cholesteryl ester hydrolysis. *J. lipid Res.* 43: 1585-1594.

Kwiterovich Jr, P. O. 2000. The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and triglycerides: a current review. *Am. J. Cardiol.* 86: 5-10.

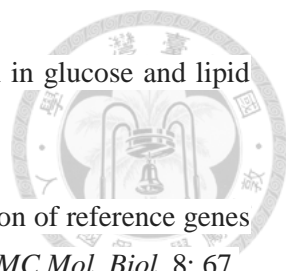
Le-Lay, S., I. Lefrère, I. C. Trautwein, I. Dugail, and S. Krief. 2002. Insulin and sterol-regulatory element-binding protein-1C (SREBP-1C) regulation of gene expression in 3T3-L1 adipocytes identification of CCAAT/enhancer-binding protein β as an SREBP-1C target. *J. Biol. Chem.* 277: 35625-35634.

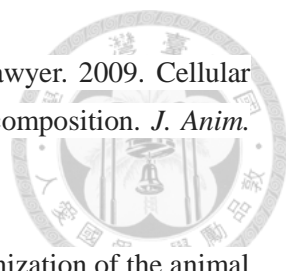
Lewis B. 1973. Classification of lipoproteins and lipoprotein disorders. *J. Clin. Pathol. Clin.* 5: 26-31.

Li, B., N. Zerby, and K. Lee. 2007. Heart fatty acid binding protein is unregulated during porcine adipocyte development. *J. Anim. Sci.* 85:1651-1659.

Manini, T. M., B. C. Clark, M. A. Nalls, B. H. Goodpaster, L. L. Ploutz-Snyder, and T. B. Harris. 2007. Reduced physical activity increases intermuscular adipose tissue in healthy young adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 85: 377-384.

Mihara, K. 1990. Structure and regulation of rat liver microsomal stearyl-CoA desaturase gene. *J. Biochem.* 108: 1022-1029.

- 
- Minokoshi, Y., C. Toda, and S. Okamoto. 2012. Regulatory role of leptin in glucose and lipid metabolism in skeletal muscle. *J. Endocr. Metab.* 16: S562.
- Nygard, A. B., C. B. Jørgensen, S. Cirera, and M. Fredholm. 2007. Selection of reference genes for gene expression studies in pig tissues using SYBR green qPCR. *BMC Mol. Biol.* 8: 67.
- Parraga, A., L. Bellolell, A. R. Ferre-D'Amare, and S. K. Burley. 1998. Co-crystal structure of sterol regulatory element binding protein 1a at 2.3 Å resolution. *Structure* 6: 661-672.
- Paton, C. M, and J. M. Ntambi, 2009. Biochemical and physiological function of stearoyl-CoA desaturase. *Am. J. Physiol. Endocrinolo. Metab.* 297: 28-37.
- Pelleymounter, M. A., M. J. Cullen, D. Healy, R. Hecht, D. Winters, and M. McCaleb. 1998. Efficacy of exogenous recombinant murine leptin in lean and obese 10-to 12-mo-old female CD-1 mice. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 275: R950-R959.
- Pethick D.W., G. S. Harper, and V. H. Oddy. 2004. Growth, development and nutritional manipulation of marbling in cattle: a review. *Aust. J. Exp. Agric.* 44: 705-715.
- Price, N. T., F. R. van der Leij, V. N. Jackson, C. G. Corstorphine, R. Thomson, A. Sorensen, and V. A. Zammit. 2002. A novel brain-expressed protein related to carnitine palmitoyltransferase I. *Genomics* 80: 433-442.
- Ramsay, T. G., X. Yan, and C. Morrison. 1998. The obesity gene in swine: sequence and expression of porcine leptin. *J. Anim. Sci.* 76: 484-490.
- Rydel, T. J., J. M. Williams, E. Krieger, F. Moshiri, W. C. Stallings, S. M. Brown, and M. F. Alibhai. 2003. The crystal structure, mutagenesis, and activity studies reveal that patatin is a lipid acyl hydrolase with a Ser-Asp catalytic dyad. *Biochemistry* 42: 6696-6708.
- SAS. 2013. SAS/STAT User's guide, Release 9.3 ed. Cary, NC, USA SAS Institute Inc.
- Sellier, P. 1998. Genetics of meat and carcass traits. Page 463. In: The Genetics of the Pig. Rothschild, M. F., and Ruvinsky, A. (ed.) CAB International, Wallingford, UK.
- Smirnova, E., E. B. Goldberg, K. S. Makarova, L. Lin, W. J. Brown, and C. L. Jackson. 2005. ATGL has a key role in lipid droplet/adiposome degradation in mammalian cells. *EMBO reports* 7: 106-113.

- 
- Smith, S. B., H. Kawachi, C. B. Choi, C. W. Choi, G. Wu, and J. E. Sawyer. 2009. Cellular regulation of bovine intramuscular adipose tissue development and composition. *J. Anim. Sci.* 87: 72-82.
- Stuart S., W. Andrzej, and J. K. Anik. 2003. Structural and functional organization of the animal fatty acid synthase. *J. lipid Res.* 42: 289-317.
- Suzuki, K., H. Kadowaki, T. Shibata, H. Uchida, and A. Nishida. 2005. Selection for daily gain, loin-eye area, backfat thickness and intramuscular fat based on desired gains over seven generations of Duroc pigs. *Livest. Proc. Sci.* 97: 193-202.
- Tyra, M., K. Ropka-Molik, A. Terman, K. Piórkowska, M. Oczkiewicz, and A. Bereta. 2013. Association between subcutaneous and intramuscular fat content in porcine ham and loin depending on age, breed and FABP3 and LEPR genes transcript abundance. *Mol. Biol. Rep.* 40: 2301-2308.
- Van Laack, R. L., S. G. Stevens, and K. J. Stalder. 2001 The influence of ultimate pH and intramuscular fat content on pork tenderness and tenderization. *J. Anim. Sci.* 79: 392-397.
- van der Leij, F. R., K. B. Cox, V. N. Jackson, N. C. Huijkman, B. Bartelds, J. R. Kuipers, and N. T. Price. 2002. Structural and functional genomics of the CPT1B gene for muscle-type carnitine palmitoyltransferase I in mammals. *J. Biol. Chem.* 277: 26994-27005.
- Webber, J. 2003. Energy balance in obesity. *Proc. Nutr. Soc.* 62: 539-543.
- Weber, J. M., and F. Haman. 2004. Oxidative fuel selection: adjusting mix and flux to stay alive. *Int. Congr.* 1275: 22-31.
- Yamazaki, N., Y. Yamanaka, Y. Hashimoto, Y. Shinohara, A. Shima, and H. Terada. 1997. Structural features of the gene encoding human muscle type carnitine palmitoyltransferase I. *FEBS Lett.* 409: 401-406.
- Young L. D. 1992. Comparison of Meishan, Fengjing, Minzhu and Duroc swine: effects on postweaning growth, feed efficiency, and carcass traits. *J. Anim. Sci.* 70: 2020-2029.
- Yokoyama, C., X. Wang, M. R. Briggs, A. Admon, J. Wu, X. Hua, and M. S. Brown. 1993. SREBP-1, a basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that controls transcription of the low density lipoprotein receptor gene. *Cell* 75: 187-197.

Zhang, Y., R. M. Proenca, M. Maffei, M. Barone, L. Leopold, and J. M. Friedman. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-432.

Zhao, S. M., L. J. Ren, L. Chen, X. Zhang, M. L. Cheng, W. Z. Li, Y. Y. Zhang, and S. Z. Gao. 2009. Differential expression of lipid metabolism related genes in porcine muscle tissue leading to different intramuscular fat deposition. *Lipids* 44: 1029-1037.