



DNA 指紋分子 標記技術

黃家富、劉富光

水產試驗所淡水繁養殖研究中心

近幾十年來，工業、資訊、電子等科技技術的快速進步，使人類社會物質文明高度發展，相對的，生態環境卻明顯惡化，自然資源與能源過度消耗，間接的使全球生物多樣性日益消失，而生物多樣性之保護與永續利用是維持全球經濟穩定與發展的重要因素。因此，如何認識、保護與永續利用生物多樣性，已成為全球矚目與積極解決的問題。為實現此一目的，必須建立一套對生物多樣性認知與鑑定的有效方法，方能逐步認清全球生物多樣性的狀況。

聯合國生物多樣性公約對生物多樣性的定義為“意指地球上陸生、海洋及其它水生生態系中生物的變異性，它包括基因多樣性、物種多樣性與生態多樣性。”由於整個生態系統包含生物與非生物間、生物與生物間交互作用，以及生物個體的生理反應等，相當複雜；所以對生物多樣性的認識與分析，是為研究之基礎與前提。生物多樣性的分析方法日益成熟與多樣化，且可以從不同角度與層次來揭示物種的變異性。

傳統生物分類學上的研究，多將焦點集中於物種的層次上，以物種的多樣性做為評估生物多樣性的指標。生物分類學與生物學之相關分支學科間存在著密切、相依的關係，早期生物分類學家以形態學、解剖學、行為學、生態學等資料作為分類形質，到 1960 年代，由於遺傳學、生物化學、細胞學、分子生物學等發展，闡明了遺傳學的分子基礎，於是蛋白質、去氧核糖核酸、核糖核酸等逐漸成為研究生物演化上重要的對象，提供了研究族群遺傳結構及分類單元間親緣關係可運用的分子遺傳標記。

分子標記之狹義概念是指 DNA 標記，它能直接反應生物個體或種群間基因組中 DNA 片段間的差異。但理想的分子標記必須具備下列條件：(1)直接以 DNA 表現，在生物體各組織、各發育階段都可檢測，不受季節、環境等限制，也不存在表達與否的問題；(2)標記數量極多，除特殊位點之標記外，均勻分佈於整個基因組；(3)符合孟德爾遺傳定律；(4)DNA 的多形性高，自然存在許多等位變異；(5)標記表現為共顯性的特點，可區分異型接合體或同型接合體；(6)能明確辨別等位基因；(7)標記具再現性，在實驗室間重複性高；(8)檢測方法簡單、快速、自動化；(9)開發成本與使用成本儘量低廉。可惜目前尚無任何一種分子標記技術可滿足以上所有的要求，雖是如此，並不影響分子標記應用於生物分子遺傳圖譜之建立、生物遺傳多樣性分析與物種之分類鑑定、轉殖動植物種鑑定、物種性狀基因定位與分離及選殖、族群遺傳結構分析與輔助育種選種等方面。

DNA 的兩大使命：一為把遺傳基因原原本本的代代相傳，二為決定生物個體性狀表現。生物體的遺傳基因可分為兩大類，一為染色體 DNA，此為目前 DNA 指紋或基因圖譜研究之主要對象；二為染色體外的遺傳因子一如粒線體、葉綠體、質體、內共生體等。應用於水產生物研究方面，以染色體 DNA 與粒線體 DNA 為主要研究題材。

粒線體是提供細胞生命活動直接能量之所，含有染色體 DNA 以外之遺傳物質，稱之為粒線體 DNA (mtDNA)，每一

細胞中含有數個至數十個粒線體。粒線體 DNA 具有：(1)分子量小、約 15~18 Kb，且分子結構為一閉合環狀雙鏈分子，易於分析；(2)具母系基因遺傳的特性；(3)未具如染色體 DNA 之修補系統，所以複製過程易發生變異，形成 mtDNA 的演化速率較染色體 DNA 快，也正是族群變異研究的好對象 (Brown et al., 1979; Moritz et al., 1987)；(4)基因組成相當的穩定 (Okimoto et al., 1992)，含有 13 個編碼蛋白質基因、2 個核糖體 RNA (rRNA) 基因、22 個轉移 RNA (tRNA) 基因及一無結構基因，稱為控制區；(5)無內含子，非密碼區很少，使 mtDNA 成為族群結構及類緣關係等研究的重要材料 (圖 1)。

對於族群基因之研究，粒線體 DNA 雖然具有以上五大優點，可作為地理上種源間差異、演化等研究的材料，但由於其僅具母系基因遺傳特性，缺乏父系基因遺傳特性，故物種是否有雜交現象、是否為同型或異型接合體，均缺乏有力的證明，故種源鑑定之效能不足。

一、DNA 指紋分子標記技術之概念與原理

DNA 的多形性是生物多樣性的本質，DNA 指紋分子標記即指以 DNA 多形性為基礎的遺傳標記。DNA 多形性現象可分為兩大類：一為序列多形性，其基因差異發生在鹼基被其它鹼基替代或缺失所造成；二為長度多形性，是由重複 DNA 序列之重複次數不同，而形成 DNA 片段長度不同，此多形性 DNA 又稱為變異性重複序列 DNA (variable number of tandem repeat, VNTR)。

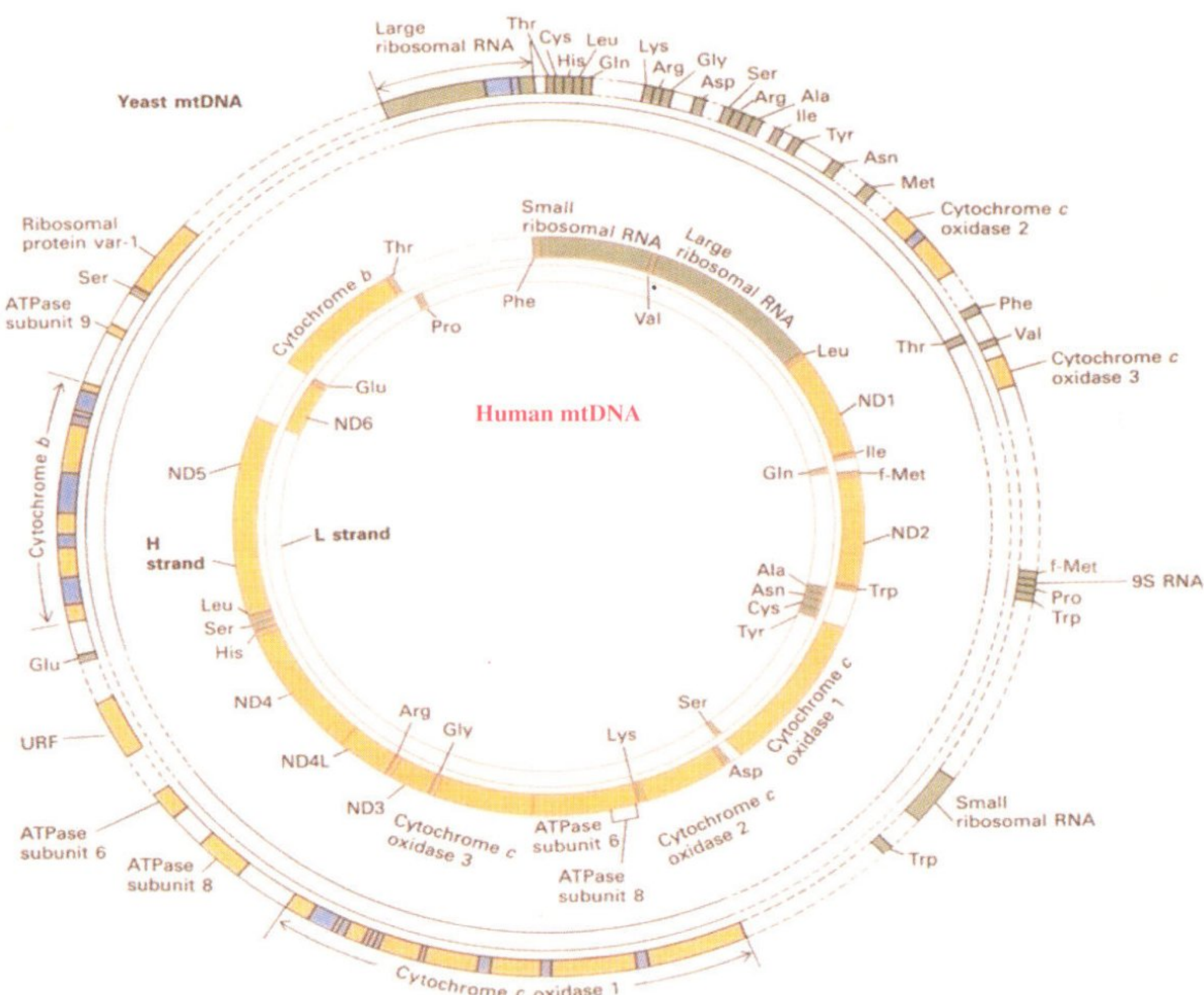


圖 1 人類(內部)與酵母菌(外部)粒線體 DNA 結構示意圖 (取自 molecular cell biology, Lodish 等編著)

Jeffreys (1985) 以特定的探針做南方氏點墨法，來雜合人的染色體中具高度縱向排列且重複的核苷酸序列時，發現來自不同個體的 DNA，所呈現的模式皆不相同，稱此為 DNA 指紋。

二、常用的 DNA 指紋分子標記技術

(一) 限制片段長度多形性 (Restriction fragment length polymorphism, RFLP)

RFLP 技術的原理是物種基因在限制核酸內切酶作用下，產生長短不一的 DNA 片段，用含放射性同位素之標記作為 DNA 探針，進行雜合反應，使相關的 DNA 片段檢測出來，可得多形性圖譜，它表現出基因組 DNA 在限制核酸內切酶消化後，所產生的片段在長度上的差異 (圖 2)。物種由於長期的演化，使物種間

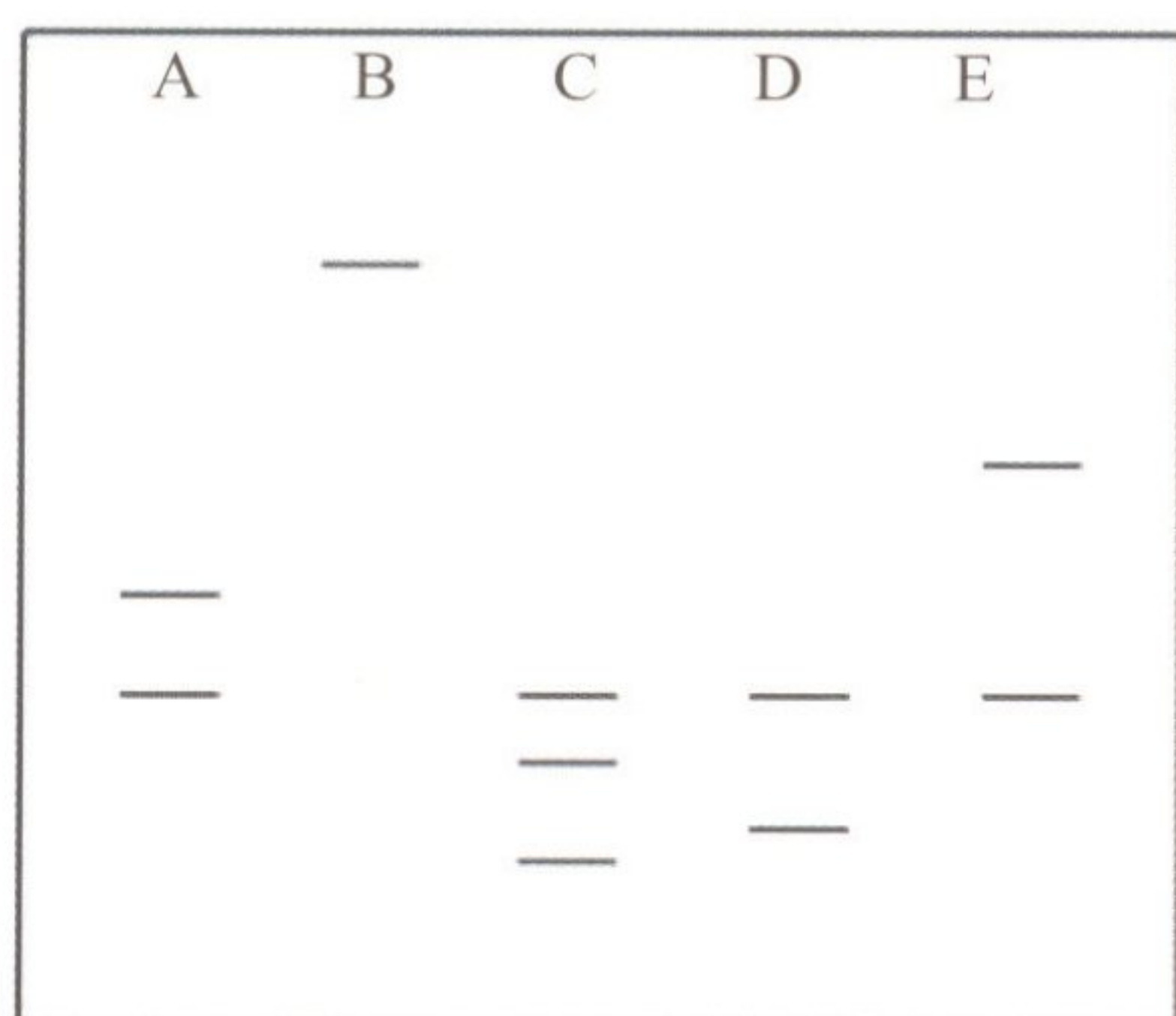
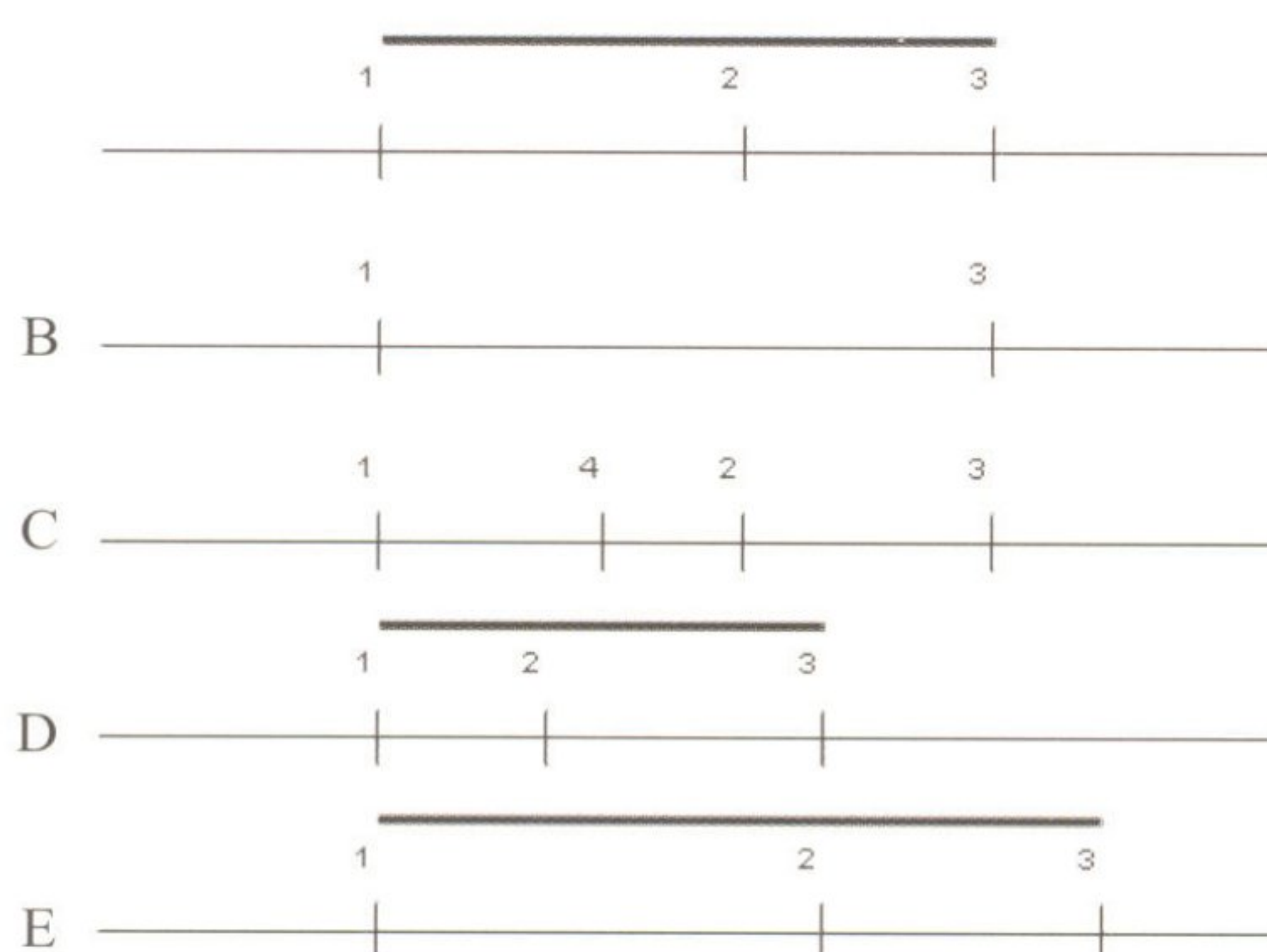
甚至品種間，在同源 DNA 序列上有所不同，本法所得圖譜之多形性應足以超過育種所需與其數量性狀相適應的多形性分子標記。RFLP 之分析結果符合孟德爾遺傳定律，不受環境的影響；其標記為共顯性標記，可區分同型接合子與異型接合子；由於具有高度變異性、高分辨率、穩定可靠、再現性好等特點，因此，它在生物系統分類、物種的起源和演化、種群遺傳結構考證，以及生物多樣性分析等研究上，被成功、廣泛地應用著。

RFLP 應用於鑑定分析技術上可分成兩類型：

1. 複合基因座：在雜合過程中以低嚴謹條件進行反應，結果可偵測到許多不同的 VNTR 基因座，如 Jeffreys (1985) 推算出在兩不相關的人同時

以 Prob 33.15 [(AGAGGTGGGCA GGTGG)₂₉] 及 Prob 33.6 [(AGGG CTGGAGG)₃]₁₈ 為探針時，獲得相同圖譜之機率為 5×10^{-19} ，故可應用於刑事、親緣鑑定。

2. 單一基因座：在雜合過程中以高嚴謹條件進行反應，其圖譜較簡單、多形性頻率較低，故可混合數個單一基因座探針雜合，亦可獲得很高的辨別能力。



— : DNA sequence converted by the hybridization prob

⊥ : Restriction site of a restriction endonuclease

(參考 Angela K. et al., 1998)

圖 2 RFLP 概念示意圖

RFLP 是具有研究應用潛力，但是在分析時，需要足夠的 DNA，且 DNA 的質要求較高，始可進行；檢測過程費時、費力，使用放射性同位素，且現行可做為探針用之寡核苷酸序列為數不多，故應用上受到極大的阻力與限制；同時只能檢測內切酶識別位點上之變異，導致提供資訊有限等之缺失。

(二) 隨機擴增片段多形性 DNA (Random amplified polymorphism DNA, RAPD)

RAPD 技術是 Williams 和 Welsh 所領導的兩個科研小組，在 1990 年幾乎同時獨自創立的一種 DNA 多形性檢測技術。它是建立在 PCR 技術基礎上的 DNA 分析法，為 DNA 指紋開闢新的領域。其原理為在無需取得相關的檢測 DNA 序列情況下，利用不同的隨機排列的 10 個鹼基寡核苷酸單鏈為隨機引子，以研究生物的基因組 DNA 作模板進行 PCR 擴增反應，然後依 PCR 產物 (DNA 片段) 的多形性來進行遺傳分析 (圖 3)。

RAPD 分析之關鍵在於所用的引子序列不同，但對於每一特定的引子，它在目標基因的序列中有其特定的結合位點，擴增特定的 DNA 區域片段，如基因的這區域發生序列嵌入、缺失、突變或重組等情形，就導致引子結合位點、擴增片段發生相應的變化，使 RAPD 擴增產物在電泳圖譜中發生變化，從而檢測出目標基因在這區域的多形性。

RAPD 分析方法的最大優點為操作相對簡便、分析量大、樣品量需求少、不需使用放射性同位素，且 PCR 產物的多形性豐富，在動、植物遺傳多樣性及其物種間鑑定等方面發揮重要的作用。

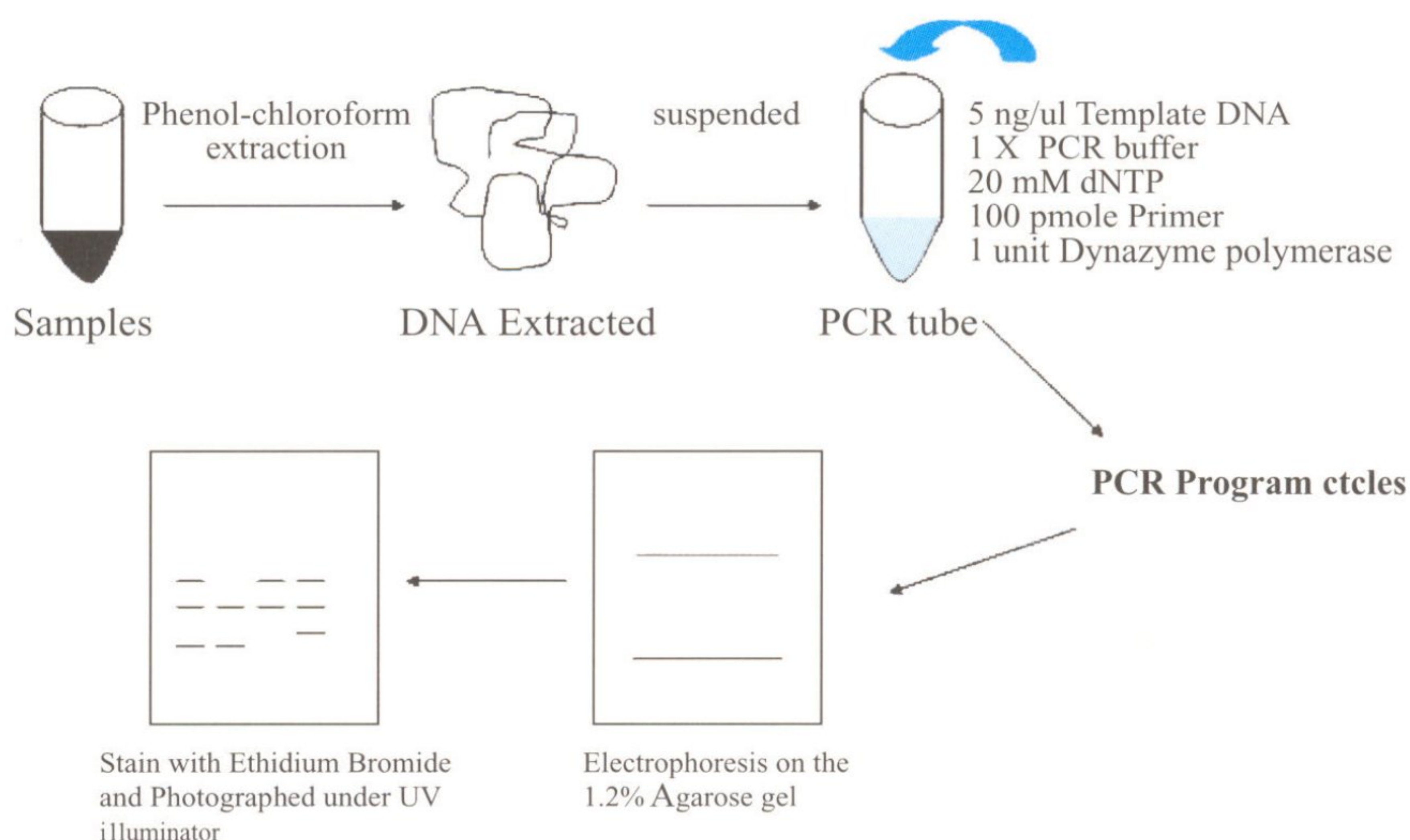


圖 3 RAPD 操作流程概念圖解

另一方面，RAPD 所製備的基因圖譜可與控制魚類經濟性狀的數量基因的多形性相對應，使其更具有魚類育種研究之應用價值。所以，RAPD 技術自 1990 年建構以來，短短 10 年已廣泛應用於細菌及動、植物群體遺傳學、遺傳育種及生物系統分類與演化研究等方面。

RAPD 技術提供了操作相對簡便、分析量大、樣品量需求少、不需使用放射性同位素且 PCR 產物的多形性豐富等優點，然此技術深受 PCR 技術的影響，而出現下述之缺失：(1) 引子大小影響到與模板 DNA 煉合的專一性。引子長度較短，擴增產物的數量愈多；引子長度愈長，擴增產物的專一性越高，產生之染色帶越少，但太長也會產生非專一性的染色帶，故引子大小以 10~12 個鹼基最具效果；同時，引子的 GC 含量以高於 50% 較佳 (Williams, 1990)。(2) PCR 反應條件對 RAPD 標記表現影響甚鉅。不同的 PCR 反應條件，會產生不同的擴增產

物表現。在煉合溫度低、模板 DNA 濃度高的情形下，擴增片段出現模糊不清的模式之機率愈高。Deng 與 Cliver (1999) 也指出，模板 DNA 濃度減少或鎂離子濃度高於 4.0 mM 以上時，RAPD 擴增產物會減少，尤其在高濃度鎂離子條件下，大分子產物減少且專一性模式會遺落。Williams (1990) 指出，當煉合溫度高於 40°C 時，將阻礙 PCR 擴增片段之進行，而使產物數量減少，相對的，亦減少隨機擴增片段的多形性，因此相關文獻中之煉合溫度大都設定在 36~40°C，這就產生了 RAPD 產物之再現性較低的另一缺失問題，也是 RAPD 技術發展最為研究人員存疑的關鍵點。(3) 等位移動的現象。RAPD 擴增產物是在該產物為唯一的基本假設下來做判定，但事實上，有可能出現分子大小相同，但序列不同的 DNA 片段。(4) RAPD 反應敏感度極高。Benecke (1998) 指出，不同的 PCR 儀器或機型會產生不同的擴增產物濃度。此

外，使用不同廠牌的聚合酶，也會產生不同的 RAPD 擴增產物。因此，固定試驗儀器及藥品，以減少試驗誤差，並配合各引子的專一性條件，將集體誤差減至最少，以增加 RAPD 標記的可信度。

雖然 RAPD 技術有上述之缺點，但於物種之快速鑑定功能及其技術優點，使其在 DNA 指紋分析上仍具有不可或缺的重要資訊。

(三) DNA擴增指紋分析(DNA amplification fingerprinting, DAF)

DAF 技術係利用非常短的隨機引子擴增不同的 DNA，其與 RAPD 技術不同處，在於 DAF 分析中使用高濃度之引子、且引子長度更短，一般為 5~8 個鹼基寡核苷酸單鏈，PCR 反應僅使用兩個溫度迴圈 (RAPD 為三個溫度迴圈)，並採用高分辨能力的聚丙烯醯胺凝膠與銀染法顯色檢測 DNA 多形性，故 DAF 之擴增產物會產生非常複雜的染色帶。其提供之資訊遠高於 RAPD，但技術較複雜。

(四) 任意引物 PCR (Arbitrary primed DNA, AP-PCR)

AP-PCR 技術中使用引子長度與一般 RAPD 引子相當，但 PCR 反應中之煉合溫度較低，此技術允許大量錯配，引動具隨機性質的 DNA 擴增，也增加擴增產物之多形性表現，但相對的產生非專一性的擴增片段，使其再現性偏低。

RAPD、DAF 及 AP-PCR 等多形性分析技術統稱為任意擴增多帶性 (multiple arbitrary amplicon profiling, MAAP)，但此用詞很少被採用；RAPD 標記是相關技術中最廣泛應用的。

(五) 擴增片段長度多形性 (Amplified fragment length polymorphism, AFLP)

AFLP 為 Vos et al. (1995) 提出結合 RFLP 與 RAPD 分析原理之最新的 DNA 指紋分析技術，其原理係將 genomic DNA 經過二種特定限制核酸內切酶處理，再與特定之接合子接合，作為擴增 DNA 片段的模板，再選擇含接合子之核苷酸序列末端上分別增加 2~3 個選擇性核苷酸的特定引子，進行 PCR 反應，來擴增引子能選擇性識別具有特異配對順序的特定 DNA 片段，然後把擴增片段 DNA 在高解析度的序列分析膠體上電泳，以其隨機表現之 DNA 片段多形性作為 DNA 指紋，其涵義為每一物種的染色體 DNA，在特定的限制核酸內切酶切點間特定片段的數量與大小均不相同 (圖 4)。

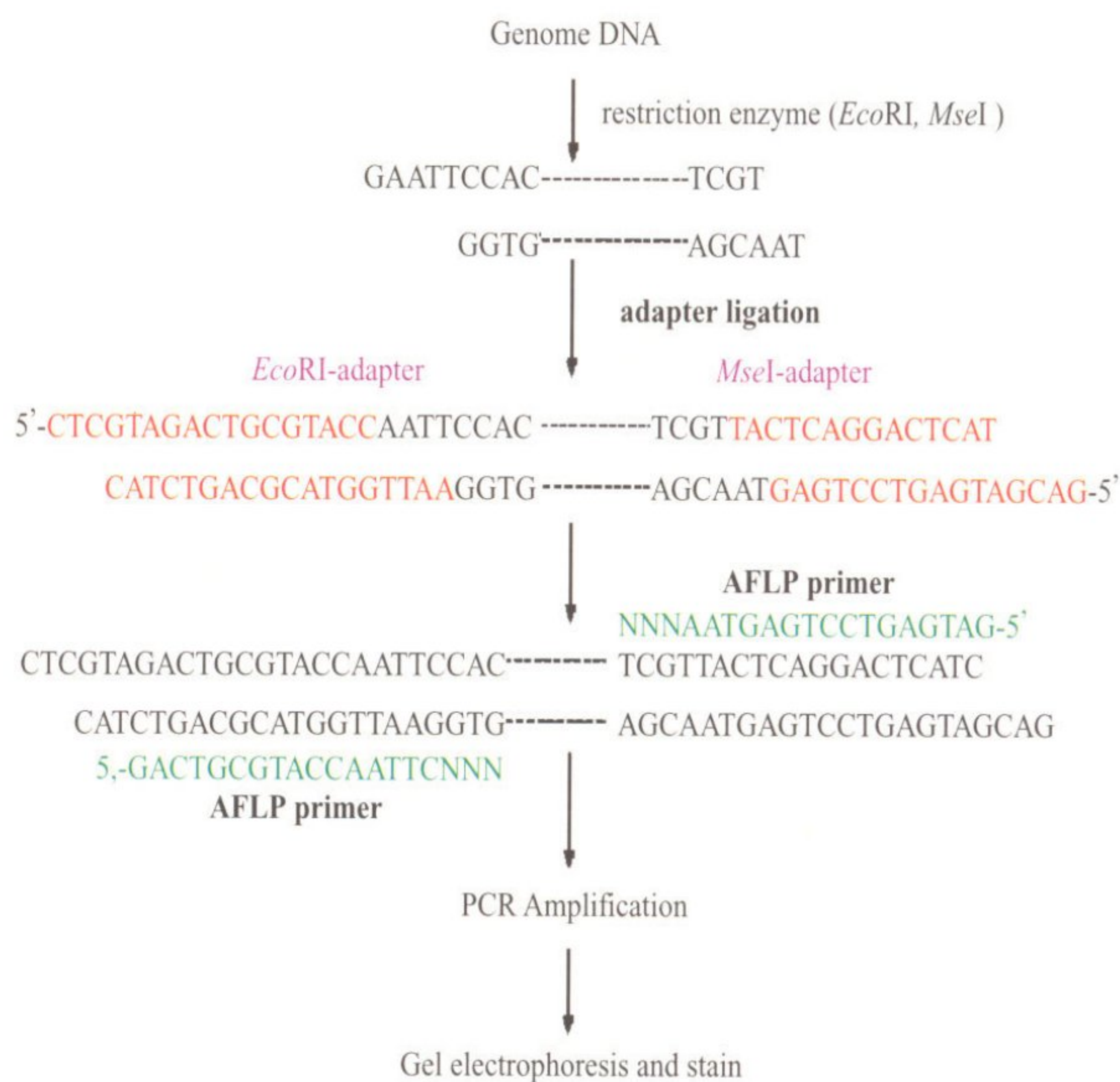


圖 4 AFLP 原理示意圖

AFLP 技術所需 DNA 量少、不需經南方氏雜合操作，結果分辨率高、穩定可靠，符合孟德爾遺傳定律，表現共顯性。每一分析可檢測到多個基因座，且多形性高，非常適合遺傳多樣性分析、種原鑑定、基因定位及快速建構遺傳圖譜等研究。Blair 利用 AFLP 技術研究 54 份水稻之遺傳變異，與同功異構酶結果比較，認為二者結論相同，同時 AFLP 對水稻之遺傳變異與建構基因圖譜十分理想。但 AFLP 技術有下列缺點：需使用放射性同位素檢測；該技術受專利保護，分析試劑昂貴；實驗條件要求較高，對操作人員素質及 DNA 質量要求較高。

(六) 重複序列標記

早於 1970 年代，在真核生物細胞基因中發現的最大特點，除了基因的編碼序列與調控序列外，它還含有大量的重複序列，而且功能性 DNA 序列大都被不編碼 DNA 序列隔開。真核生物 DNA 序列大致上可分為：(1) 不重複序列：其 DNA 序列大小相當一個結構基因的長度，如蛋清蛋白、血紅素和珠蛋白等都是單拷貝基因；(2) 中度重複序列：此類的重複次數在 $10^3 \sim 10^4$ ，如 rRNA、tRNA 及某些結構基因一組蛋白基因；(3) 高度重複序列：又稱衛星 DNA，呈不規則排列且重複數目不一，由 2 至數千鹼基的 DNA 序列。衛星 DNA 是不會轉錄的，其功能目前尚不明確，推測可能與染色體的穩定性有關。

衛星 DNA 依其重複單位大小及次數而分為：(1) 衛星 DNA：主要重複單位很大，一般為幾百至幾千鹼基對，通常分

布在染色體異染色質區，具有物種高度特異性，可用於染色體或染色體片段的鑑定；(2) 迷你衛星 DNA：主要特性為具有 9~65 鹼基的 DNA 重複排列的序列，通常為 G-rich 區，主要分佈在染色體的近端點處，而個體間，每一區域內所含迷你衛星數目與大小變化很大，具有獨特性，此獨特性就成為特有的指紋，因而可以利用重複單位的同源序列作為探針，進行多形性分析與染色體定位。人類現今的 DNA 指紋係利用迷你衛星 DNA 當探針，進行 RFLP 技術分析，來鑑定親子關係、法醫學之犯罪偵防等；(3) 微衛星 DNA：又稱為簡單重複序列 (simple sequence repeats, SSR)。其內含 2~5 個鹼基序列重複排列的核苷酸，如 $(GA)_n$ 、 $(GT)_n$ 、 $(GAA)_n$ ，重複次數因生物個體而異，其在染色體中呈隨機分布，大部份位於基因的插入區或轉譯蛋白質序列的兩側，與編碼 DNA 序列功能的表現無關 (Tautz and Renz, 1984)。由於其序列重複次數及重複程度的不同而形成每一基因座的多形性，使其成為較佳的標記。

衛星 DNA 之發展，係由迷你衛星 DNA 開始。Wyman and White (1980) 發現迷你衛星 DNA，而 Jeffreys 等人 (1985) 首先以迷你衛星 DNA 當作分子標識，同時亦針對許多迷你衛星基因座之變異進行研究，此技術很快地應用在魚類品系與漁業相關問題上，如 Taggart and Ferguson (1990)、Carter et al. (1991)、Harris et al. (1991)、O'Reilly and Wright (1995) 等。然此技術無法歸類出一種特殊的基因座，來檢測族群中經交配產生之結合型模式是否符合 Hardy — Weinberg

定律，因此許多研究再發展單一基因座之迷你衛星探針 (Wong et al., 1987)。Taggart and Ferguson (1990) 及 Bentzen et al. (1991) 首次發表鮭魚及吳郭魚的單一基因座探針，接著 Beacham et al. (1995)、Galvin et al. (1995)、Harris and Wright (1995) 等發展出 Sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*)、Atlantic salmon (*Salmo salar*) 及 Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) 之單一基因座探針。為開發這些探針，除非有來自相當相似的物種之探針可用，否則必須自研究生物體分離與選殖，因此迷你衛星 DNA 之發展受限。

微衛星 DNA 之研究方法，一般以其兩側的保守序列設計一對特異引子，稱之為特定序列位點 (sequence tagged site, STS)，此引子標定同位素進行聚合酶連

鎖反應，擴增分析的 DNA 片段，再以聚丙烯醯胺膠體分析對偶基因大小；此基因座的表現與迷你衛星 DNA 在染色體上之比較，顯得更加豐富、分布更加廣泛 (Jeffreys et al., 1987)。自 1989 年 Litt and Luty、Tautz 及 Weber and May 分別報導分離微衛星基因座的方法及利用 PCR 進行基因座變異的分析方法後，此高度多形性微衛星基因座即被廣泛地應用 (圖 5)。

現今微衛星 DNA 常應用於 (1) 遺傳疾病的檢定：人類微衛星 DNA 之三核苷酸重複序列中，目前只發現 CCG 與 AGC 重複，已證實其重複次數因過度擴張，而導致遺傳疾病，如 Huntington disease 等神經發生失調疾病，與轉錄 glutamine 的 AGC 核苷酸重複序列發生聚集有關；(2) 癌症研究：微衛星基因座重複序列不

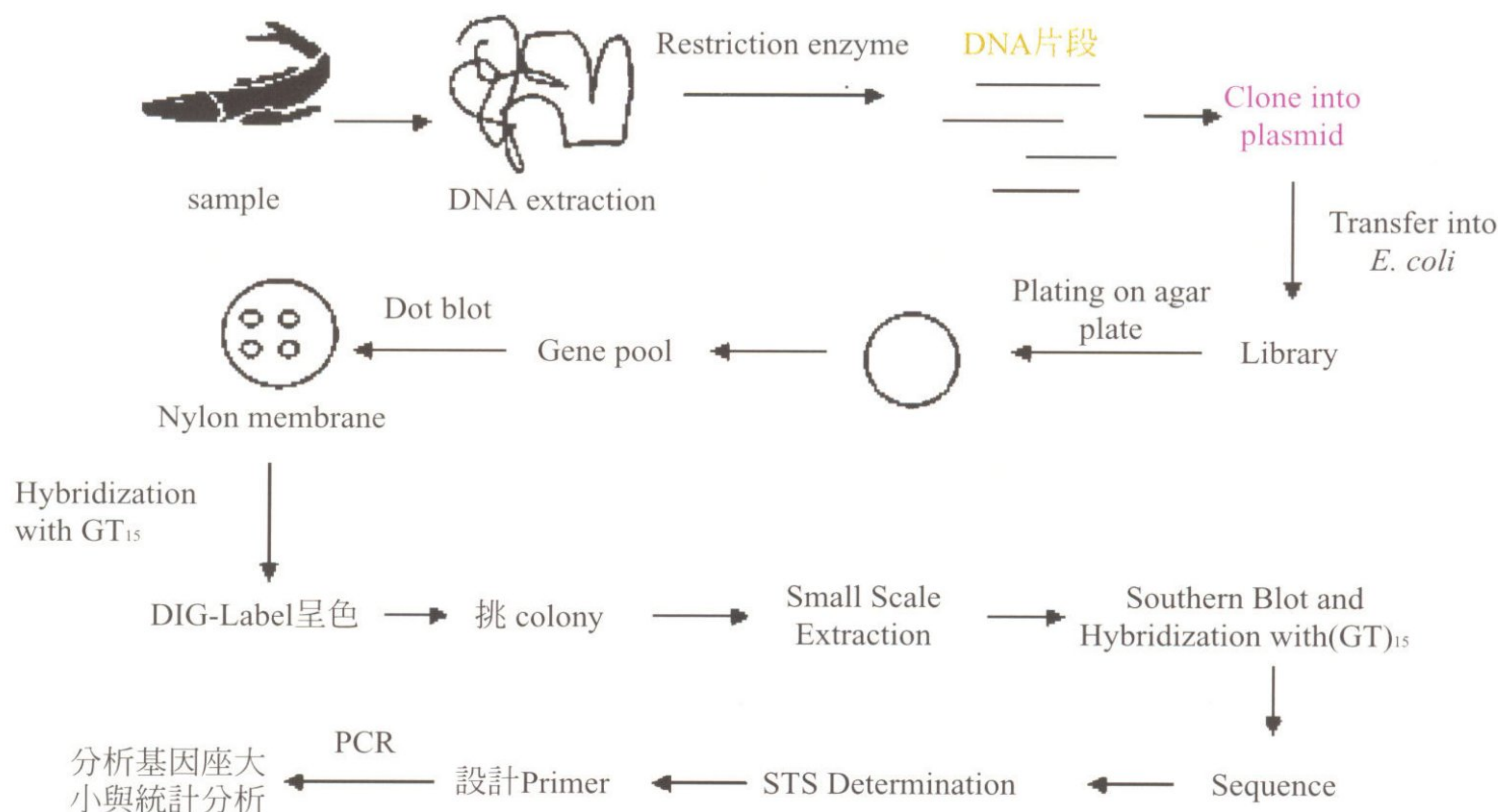


圖 5 傳統微衛星 DNA 分析選殖流程示意圖

穩定的現象，首先在直腸癌 (hereditary non-polyposis colon cancer, HNPCC) 中發現 (Aaltonen et al., 1993)，接著針對多種癌細胞進行研究，發現短小的重複序列於 DNA 複製時，若修補系統發生缺失時，亦會導致基因突變 (Boyer et al., 1995)；(3) 族群遺傳：在漁業方面，Nielson et al. (1994) 首先利用微衛星基因座來探討虹鱒之族群內與族群間之變異，結果顯示粒線體 DNA 與微衛星基因座在分化上有相似的染色帶模式；接著有許多的微衛星 DNA 研究報告相繼發表；(4) 親子鑑定與親緣關係分析：微衛星 DNA 最早應用於遺傳圖譜的建立，在漁業方面，Colbourne et al. (1996) 以 (GT)_n 之微衛星作為 bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*) 的 DNA 指紋，並作為育種後的評估。Herbinger et al. (1997) 研究大西洋鱈魚 (*Gadus morhua*) 幼苗之親緣關係及其對族群大小之影響。Geoffrey et al. (1999) 應用河魴 (*Ictalurus punctatus*) 之微衛星基因座之多形性進行育種管理。Norris et al. (2000) 利用微衛星標記對養殖的大西洋鮭魚 (*Salmo salar*) 研究其親緣關係等。

Callen et al. (1993) 首先在人類微衛星 DNA 發現 null alleles，其後 Allen et al.、Paetkau and Strobeck、Pemberton et al. 於 1995 年陸續發表有關 Null alleles 的報告，此乃該技術作族群分析研究上最大的困擾。由於微衛星引子是針對特定的微衛星 DNA 基因座設計的，同型接合體只有一種基因型 (Love et al., 1990)，異型接合體則會出現 1 或 2 種基因型，在聚丙烯醯胺膠體上應只有 1~2 條染色帶，但在

試驗中常出現不只 2 條的主要染色帶。由於必須針對每一染色體上的微衛星測定並找出其兩端的 STS 位置，設計引子，這無疑的須要投入極大量之人力、物力與經費。

(七) 序列特徵化擴增區域 (Sequence characterized amplified region, SCAR)

SCAR 標記是以 RAPD 技術為基礎發展而成，其原理與操作是先作 RAPD 分析，然後將目標 RAPD 片段 (與目標基因連鎖的 RAPD 片段) 進行選殖與序列分析，根據原 RAPD 片段兩末端的序列設計特定引子，引子長度較 RAPD 引子為長，通常為 24~26 個鹼基，再以此引子進行 PCR 特異擴增，如此可把與原 RAPD 片段相對應之單一基因座或位點鑑定出來，此位點稱為 SCAR。SCAR 較 RAPD 或其它利用隨機引子的方法，在基因定位和基因圖譜中之應用更佳，因為它有更高的可重複性 (再現性)，且標記為共顯性遺傳。

(八) 隨機擴增微衛星多形性 (Random amplified microsatellite polymorphism, RAMP)

Zietkiewicz et al. (1994) 對微衛星 DNA 技術進行改良研究，他們在微衛星 DNA 的 5' 端或 3' 端加上 2~4 個隨機選擇的核苷酸，稱之為加錨微衛星寡核苷酸引子，以此引子對基因組進行擴增，就能使位於反向排列的間隔不太大的重複序列間的基因組片段進行 PCR 擴增。此類標記又稱為 Inter-simple sequence repeat (ISSR) 或 Anchored simple sequence repeat (ASSR)，為共顯性遺傳。若 PCR 應

中之引子，一個為加錨的 ASSR 引子，另一個為隨機引子，則稱隨機擴增微衛星多形性。

(九) RAMPO (Random amplified microsatellite polymorphism analysis)

RAMPO 與 RAMP 的英文全名相似，但實驗方法卻不同，操作流程為先以單一的隨機引子 (即 RAPD 引子) 對基因組 DNA 進行擴增，用電泳將擴增片段分開，然後把凝膠上之 DNA 轉移至尼龍膜上，使之與一帶有放射性標記的微衛星 DNA 之核苷酸探針 (如 $[CA]_{15}$ 、 $[GA]_{15}$) 進行雜合，顯影後可得到新的多形性類型，此技術即為 RAMPO。

(十) 單核苷酸多形性 (Single nucleotide polymorphism, SNP)

一個群體的正常個體間基因組 DNA 之某些位點的單個鹼基對存在差異，有兩種或以上的差別，把位點用等位基因表示，即存在兩種或以上的等位基因，最少的一種等位基因之出現率不會少於 1%，就稱為 SNP。原則上，SNP 可以有兩種、三種或四種多形性，但在人類基因組中三、四等位基因型幾乎不存在，所以 SNP 稱為二等位基因多形性標記。SNP 之多形性變異可由單鹼基的轉換或顛換引起。

SNP 用作遺傳標記具有下列優點：

(1) SNP 在基因組之分佈較微衛星標記廣泛得多；(2) 與重複的微衛星位點相比，SNP 是高度穩定的，尤其是編碼區的 SNP (Coding SNP, cSNP)；(3) 部分位於基因內部的 SNP 可能會直接影響產物蛋白

質的 3D 結構或基因表達程度，因此它們本身可能就是疾病遺傳機制的改變位點；(4) 易於進行自動化分析，縮短研究時間。目前在人類染色體上定位之 SNP 標記已逾 7000 個，且資料庫數量呈幾何級數增加，在植物方面也正進行開發研究。總之，SNP 對群體遺傳學、製藥學、法醫學、癌症、遺傳性疾病及演化研究等產生重大影響，其研究將是二十一世紀生命科學的重點。

三、結論

生物多樣性的研究不僅反映現存物種間的相對遺傳關係，也可瞭解物種形成與滅絕之機制，揭示生態系統穩定性與彈性之規律，確保制定各種政策或研提對策時之科學性，令經濟、社會發展與自然資源、生態環境相互協調發展，可實現永續經營發展目標的重大意義。

本文對 DNA 指紋分子標記技術之分析原理、方法及應用作了扼要介紹，可知分子標記如同形態形質資料般，亦為一種資訊，所以在研究生物遺傳多樣性時，可從物種特異性及已有的研究基礎出發，選擇適當的技術與方法，並可將幾種檢測方法綜合使用，揚長避短，發展成為快速有效的綜合方法；若能配合外部形態形質，甚至生態與地理分布上的特徵等相互討論，則能獲得更可靠的資訊。此外，隨著生物晶片技術發展及 DNA 定序技術的低成本化、高效自動化，將來各物種可能如同人類基因體研究般得到一級結構的 DNA 序列，更可直接、有效的提供資訊。