文蛤基因體之解析研究

黃慶輝、吳嘉哲 水產養殖組

文 蛤 (Hard clam) 屬 於 軟 體 動 物 門 (Mollusca)、 雙 殼 綱 (Bivalvia)、 簾 蛤 目 (Veneroida)、 簾 蛤 科 (Veneridae)、 文 蛤 屬 (Meretrix)。根據漁業統計年報資料顯示,臺灣文 蛤養殖產量每年約 5 萬公噸,產值每年超過新臺幣 50 億元,成為內陸養殖最重要的貝類之一,近年來本所研究持續進行相關品系之選育計畫,本計畫也希望能夠配合相關的計畫,進行文蛤基因體之解析,建立育種所需之基因背景參考資料,後續與選育至一定程度之文蛤品系的遺傳背景做定序與比較,瞭解選育效果。

為建立目前篩選文蛤之遺傳背景資料,挑選 合作養殖戶場品系篩選中之健康文蛤個體,解剖 取樣進行 DNA 及 RNA 萃取及品質確認,將萃取 好之 DNA 製備成長片段 (PacBio) 定序用核酸庫 (library),於 PacBio Sequel 2 上進行 SMRT 定序, 第 1 次數據總產出為 161.13 Gb raw data, 4.63 Gb Hi-Fi reads,本次數據觀察到大量定序片段長度 較短,並且沒有達到 Hi-fi reads 的準確度,觀察 reads 的長度分布,疑似有定序提早結束的現象。 第 2 次定序成功產出為 13.12 Gb Hi-Fi reads, 平 均讀長14,223 也是第1次定序之約2倍(表1)。 基因組組裝之前,根據 k-mer 分析估算了基因體 大小和基因體雜合度。使用 Falcon 軟體和 PacBio 平台數據,組裝文蛤基因組片段 (contigs),再結 合 Illumina HiSeq 之定序資料,進行校正與補正 後,目前資料所能組裝的最佳情況文蛤基因體的 大小預估在 1.2 - 1.3 Gb 之間,目前所獲得之定 序資料大約為文蛤基因體之 10X 左右,一般而言 要組裝全基因組需要至少30-40X,目前情況至 少需要再2-3次定序。另定序完成之短片段轉 錄體序列運用其他已有基因組資料之軟體動物,

以 Nr database (blast) 進行物種基因分類 (圖 1), 另運用 SwissProt 資料庫、GO、KEGG、BLASTp 等分析方式進行同源基因預測及功能性基因預 測。

本研究希望能夠持續累積養殖文蛤序列資料,後續能成為未來文蛤品種培育重要的背景資料,改善臺灣文蛤養殖現況,使其更具高生產效益。

表 1 本年度研究 2 次長片段定序結果之比較

樣本	HiFiReads (#)	HiFiYield (nt)	平均 長度
Xie0203_foot (1 st)	626,900	4,630,000,000	7,390
Xie0906_gill (2 nd)	935,961	13,312,315,936	14,223

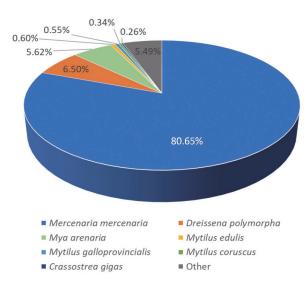


圖1 文蛤轉錄體序列在Nr database下有8成以上(80.65%)之基因序列與櫻桃寶石簾蛤(Meretrix mercenaria)最為相似,其餘則為斑馬貽貝(Dreissena polymorpha, 6.50%)及大海螂蛤(M. arenaria, 5.62%)等,顯示目前櫻桃寶石簾蛤之功能性基因資料庫資料較為完整