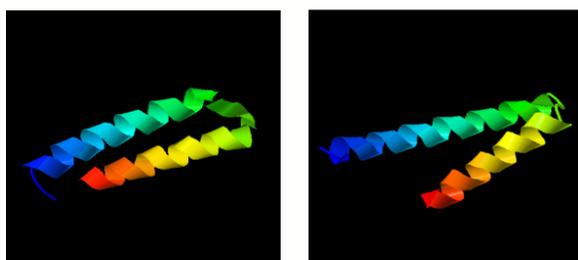


## 水產種苗研究團隊－臺灣重要養殖魚貝類之抗病基因研究

張錦宜、吳嘉哲、陳力豪  
水產養殖組

許多與免疫相關的基因多具有等位基因 (allele)，不同等位基因的組合，很可能是造成不同個體間抗病能力差異的重要原因之一。本研究自點帶石斑的抗菌肽 Epinecidin 選殖到 2 個等位基因，依序命名為 Epine-A 及 Epine-B。此 2 等位基因的 DNA 相似度達 97%，但因為閱讀框架 (reading frame) 的改變，轉譯出的胺基酸序列相似度僅 79%，其所轉譯出的抗菌肽分別為 Epinecidin-A 及 Epinecidin-B (如圖)。



電腦模擬點帶石斑抗菌肽 Epinecidin 的分子結構(左：Epinecidin-A，45 個胺基酸組成，淨電荷為+6；右：Epinecidin-B，46 個胺基酸組成，淨電荷為+8)

以電腦 3D 結構模擬分析，Epinecidin 分子構型屬於典型的  $\beta$  半螺旋摺疊類型，同時具有親水結構與疏水結構，為兩性分子。經分析 Epinecidin-A 與 Epinecidin-B 的胺基酸序列組成，兩者 N-端均為 22 個胺基酸的訊號序列 (signal peptide)，C-端則分別為 45 及 46 個胺基酸組成抗菌肽 (antimicrobial peptide)。成熟 Epinecidin-A 抗菌序列具有 12 個帶正電胺基酸及 6 個帶負電胺基酸，淨電荷為+6，Epinecidin-B 抗菌序列具有 14 個帶正電胺基酸及 6 個帶負電胺基酸，淨電荷為+8。對本試驗測試的 8 株水產常見病原菌而言，Epinecidin-B 的整體抗菌活性優於 Epinecidin-A。

利用等位基因將 1,986 尾市售點帶石斑區分成 3 群不同的基因型，雜合子 Epine-AB 型最為普遍，基因出現頻度為 85.4%；純合子 Epine-AA 及 Epine-BB 型的石斑數量遠少於雜合子，基因出現頻度依序為 9.5% 及 5.1%。不同基因型石斑的抗病能力有所差異，以水產病原菌 *Vibrio harveyi* 進行人工感染試驗之結果顯示，Epine-BB 型石斑的抗病力最強 ( $p < 0.05$ )，其半致死濃度達  $1.3 \pm 0.3 \times 10^7$  CFU/ml，Epine-AB 與 Epine-AA 型石斑的抗病力較差，其半致死濃度分別為  $9.5 \pm 0.4 \times 10^6$  CFU/ml 及  $7.4 \pm 1.6 \times 10^6$  CFU/ml (如表)。

Epine-A 及 Epine-B 等位基因發生頻率與不同基因型石斑之抗病能力表現

基因型		基因頻度 (%)	半致死濃度 LD <sub>50</sub> (CFU/ml)
純合子	AA	9.5	$7.4 \pm 1.6 \times 10^6$
	BB	5.1	$1.3 \pm 0.3 \times 10^7$
雜合子	AB	85.4	$9.5 \pm 0.4 \times 10^6$

研究結果顯示，市售點帶石斑中以 Epine-AB 型基因頻度最高，AA 型次之，BB 型最少；純合子出現頻度遠低於雜合子。而抗病力則以純合子 Epine-BB 型石斑顯著優於其他二者。若以抗細菌性疾病的觀點篩選種魚，建議優先選育帶有 Epine-B 基因的種魚，純合子 Epine-BB 型尤佳。本計畫係針對抗菌肽等位基因進行研究，未來與抗病毒等位基因的研究整合後，將可以作為高抗病品系種魚篩選的分子標誌，進而開發出一實用的分子選育工具。