

利用酵母菌表現載體構築重組魚蝦抗菌肽核酸之序列

黃美瑩、陳力豪、曾亮璋、張錦宜
水產養殖組

本試驗旨在利用酵母菌表現載體構築帶有重組石斑魚及草蝦抗菌肽核酸之序列。經由分子選殖石斑魚及草蝦之抗菌肽核酸序列 (Epinecidin、SALF)，以石斑魚及草蝦之互補去氧核糖核酸 (cDNA) 為模板進行聚合酶連鎖反應 (PCR)，分別合成石斑魚及草蝦之抗菌肽核酸序列。將該兩個抗菌肽核酸序列接合至載體 T vector 並轉型至大腸桿菌 *E-coli* DH5 α ，分別命名為 rEpi (石斑魚) (圖 1) 以及 rSALF (草蝦) (圖 2)。

將重組抗菌肽序列 rEpi 及 rSALF 分別與酵母菌胞內表現型載體 pYLEX1 及胞外分泌型載體 pYLSC1 進行接合反應，再轉型至大腸桿菌 *E-coli* DH5 α ，分別命名為 pYE-EPI (重組石斑魚抗菌肽，酵母菌胞內表現型)、pYS-EPI (重組石斑魚抗菌肽，酵母菌胞外分泌型)、pYE-SALF (重組草蝦抗菌肽，酵母菌胞內表現型) 及 pYS-SALF (重組草蝦抗菌肽，酵母菌胞外分泌型) (圖 3)。本試驗分別於酵母菌胞內表現型載體及酵母菌胞外分泌型載體成功構築了帶有重組石斑魚及重組草蝦抗菌肽核酸之序列。



圖 1 帶有石斑魚抗菌肽核酸序列 rEpi 之 T vector 載體轉型到 *E-coli* DH5 α ，單一菌落選殖擴增反應後之定序結果，並與 NCBI 登錄之序列進行比對

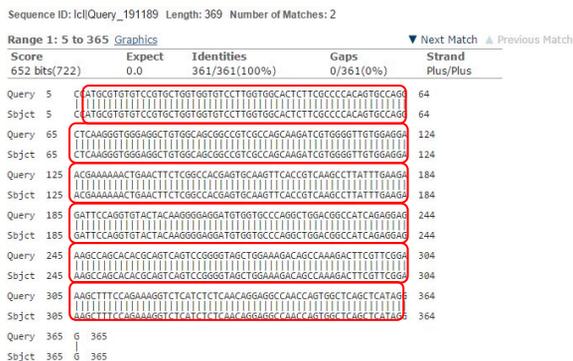


圖 2 帶有草蝦抗菌肽核酸序列 rSALF 之 T vector 載體轉型到 *E-coli* DH5 α ，單一菌落選殖擴增反應後之定序結果，並與 NCBI 登錄之序列進行比對

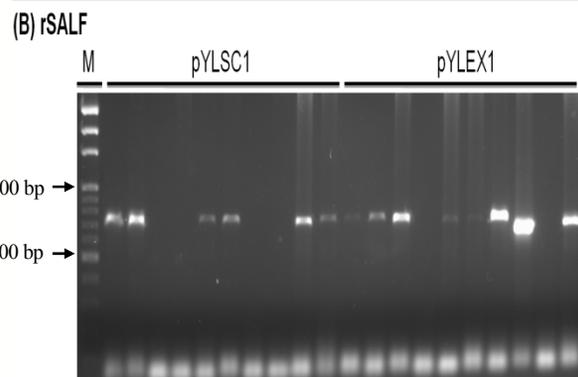
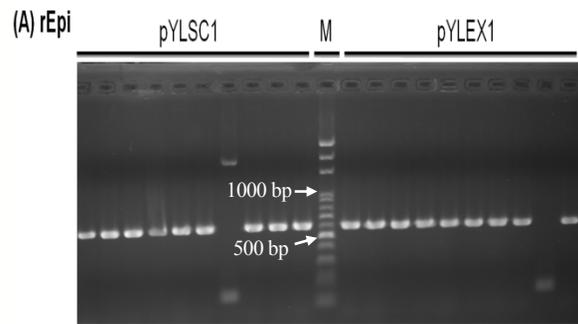


圖 3 帶有石斑魚抗菌肽核酸序列 rEpi 之酵母菌載體轉型至 *E-coli* DH5 α 後的單一菌落選殖擴增反應結果(A)；帶有草蝦抗菌肽核酸序列 rSALF 之酵母菌載體轉型至 *E-coli* DH5 α 後的單一菌落選殖擴增反應結果(B)。pYLSC1：酵母菌胞外分泌型載體，pYLEX1：酵母菌胞內表現型載體