藉由分子標誌輔助開發鞍帶石斑育種研究(Ⅱ)

林峰右、吳育甄、胡益順、葉信利
海水繁養殖研究中心

DNA 分子標誌是在分子層次上，經由標準操作程序來反映生物個體間或種群間位於 DNA 分子片段上所具有之差異，同時也是識別基因型 (genotype) 的表現形式。目前 DNA 分子標誌已經廣泛應用於基因組的各種研究。

本計畫首先由追蹤表現型與基因型之間的關係，利用數量遺傳學探討量化性狀及影響因素，並追蹤骨骼肌生成相關基因之 DNA 分子標誌在不同族群間的差異。採集兩批不同體重之鞍帶石斑 (*Epinephelus lanceolatus*)，一批次為 6 齡 7 個月魚隻視為 A1 族群，與 5 齡 10 個月批次魚隻視為 A2 族群進行試驗。A1 批次魚隻平均體重 16.2 ± 3.1 kg，平均全長 94.2 ± 5.5 cm，A2 批次魚隻平均體重 15.1 ± 2.8 kg，平均全長 90.1 ± 5.2 cm。11 組微衛星分析兩個族群首先萃取二組別鞍帶石斑魚鱗之基因組 DNA，再利用專一性引子進行螢光標記微衛星產物擴增，分析兩個不同體重之族群的基因型表現。

試驗結果，11 組微衛星引子皆可以在兩個鞍帶石斑族群中擴增出具有螢光標記的專一性產物進行後續分析。利用螢光產物進行毛細管電泳分析後得到的螢光波峰訊號圖和訊號量化表進行整理判別。將微衛星標誌的等位基因由小到大依序由英文字母命名 (A、B、C) 等，彙整兩族群於 11 組微衛星引子等位基因總表 (如表)。其中 11 個微衛星標誌中有 4 個標誌為 Ela348、Ela8112a、Ela9156b、Ela22361 在 2 個族群統計上，與體重之間關係達到顯著水準差異 ($p < 0.05$)，顯示這些多型性微衛星可做為分子標誌以進行分子標誌輔助育種 (MAS) 相關工作，應用選育具有優良生長性狀的魚隻。

A1、A2 Allele Summary Table

gene	PKN2	AKT3	TGFBR1	AKT2	MEF2D	ACVR2A	NFKB2	PRKCI	HDAC5	MEF2D	MSTN
motif	(TG)n	(TCC)n	(AC)n	(CA)n	(CA)n	(TC)n	(GT)n	(CA)n	(CA)n	(GT)n	(CA)n
locus	Ela22373	Ela28217	Ela25872	Ela28216	Ela8112a	Ela348	Ela9156b	Ela22361	Ela13962	Ela8112e	JN681176
location	3'UTR	3'UTR	3'UTR	3'UTR	3'UTR	3'UTR	3'UTR	3'UTR	3'UTR	3'UTR	intron2
allele A	190, n=7	234, n=5	374, n=14	218, n=8	261, n=12	391, n=15	216, n=9	295, n=12	230, n=12	284, n=14	383, n=14
allele B	192	237	376, n=15	220, n=9	263	393	222	297	232	286	385
allele C	194, n=9	239			265	395	224	301	234	288	387
allele D		240, n=7			267	397	226	303	236	290	389, n=17
allele E					269	399	228	309	238	292, n=18	
allele F					271	401	234	311	240	294, n=22	
allele G					273, n=18	403, n=21	236	313	242, n=20		
allele H							238, n=20	315	244, n=21		
allele I								317			
allele J								319			
allele K								321			
allele L								325			
allele M								2329, n=29			
allele number	3	3	2	2	6	7	8	13	7	5	4
repeat number	7-9	5-7	14-15	8-9	12-18	15-21	9-20	12-29	12-20	14-18	14-17

註：A1 族群的等位基因為紅色字體；A2 族群的等位基因為藍色字體