白羅曼鵝粒線體 DNA 資料建立

報告人：王錦盟

參與研究人員：王錦盟、顏念慈、張雁智、粘碧珠、胡見龍、賈玉祥

執行單位：畜產試驗所 彰化種畜繁殖場

執行期間：96 年

執行成果

粒線體**DNA**

真核細胞的DNA大部份位於細胞核內，另外少量位於細胞質的粒線體中。細胞中的粒線體數目介於數百至數千個粒線體之間，每個粒線體中含有2至10套的DNA，故每個細胞約有500-1000粒線體DNA 基因組。粒線體DNA與質體DNA (plasmid DNA)一樣，為雙股的環狀分子。粒線體具有自己的DNA控制系統，同時也受到細胞染色體DNA的控制。由於粒線體有自己的rRNA，tRNA基因，且呼吸鏈中的某些蛋白質或酶的編碼基因存在於粒線體DNA上，所以粒線體能表現自己的基因並合成一些蛋白質。

脊椎動物典型的粒線體DNA全長約16.5k bp，除了1個non-coding control region外，包含13個蛋白質編碼基因(protein-coding genes)，2個ribosomal RNAs (12S, 16S rRNA)，22個transfer RNAs(tRNA)基因。粒線體DNA除了與DNA複製起始有關的控制區(control region)外，粒線體DNA基因組的基因間無間隔區，基因中亦無內含子(intron)，甚至有基因重疊現象。其中除了rRNA和各種蛋白質的編碼基因外，還有tRNA分散在rRNA和編碼區(coding region)之間。這些tRNA序列可作爲切割pre-RNA的識別資訊，核酸酶(nuclease)在tRNA兩端把pre-RNA切開，使tRNA、rRNA和mRNA分開，成爲成熟的rRNA、tRNA和mRNA。

白羅曼鵝粒線體DNA定序與分析

由於血球中的粒線體數目較少，若以血球的全部基因組DNA (total genomic DNA)為模版(template)進行PCR，以增幅(amplify)粒線體DNA中特定的DNA區域，常會有受染色體DNA干擾的凝慮。故採取白羅曼鵝的蹼(web)組識，抽取其total genomic DNA，分別以32對鳥類的引子(primer)進行PCR反應，以增幅粒線體DNA的特定區域DNA，增幅的DNA

片段(fragment)，其長度介於412-1322bp之間，以1.5% 瓊膠電泳(agarose gel electrophoresis)確定DNA片段的長度。PCR產物以切膠純化的方法將特定的DNA片段純化後進行DNA定序。

所得到的白羅曼鵝粒線體DNA片段的序列，經由BLAST比較各DNA片段的鹼基後，進而將各片段連接為完整的白羅曼鵝粒線體DNA序列。白羅曼鵝粒線體DNA完整序列全長為16.7k bp。

以白羅曼鵝的粒線體DNA基因組與NCBI網站的資料庫比對，其Max score高低依序為Wihte Fornt goose (2.677e+04; AF363031)、Canada goose (2.313e+04; DQ019124)與Tundra swan (2.034e+04; DQ083161)。白羅曼鵝粒線體DNA序列與三者粒線體DNA序列的相同比率(identities)分別為98%、92%與90%，而其與雞的粒線體DNA序列(AP003580)相同比率則為80%。

白羅曼鵝完整粒線體DNA經以BLAST與tRNAscan-SE Searchsever軟體的分析再與NCBI網站的資料庫比對，預測白羅曼鵝粒線體DNA有13個蛋白質、22個tRNA與2個rRNA基因，其相對位置如圖1，此相對位置與一般鳥類相同。

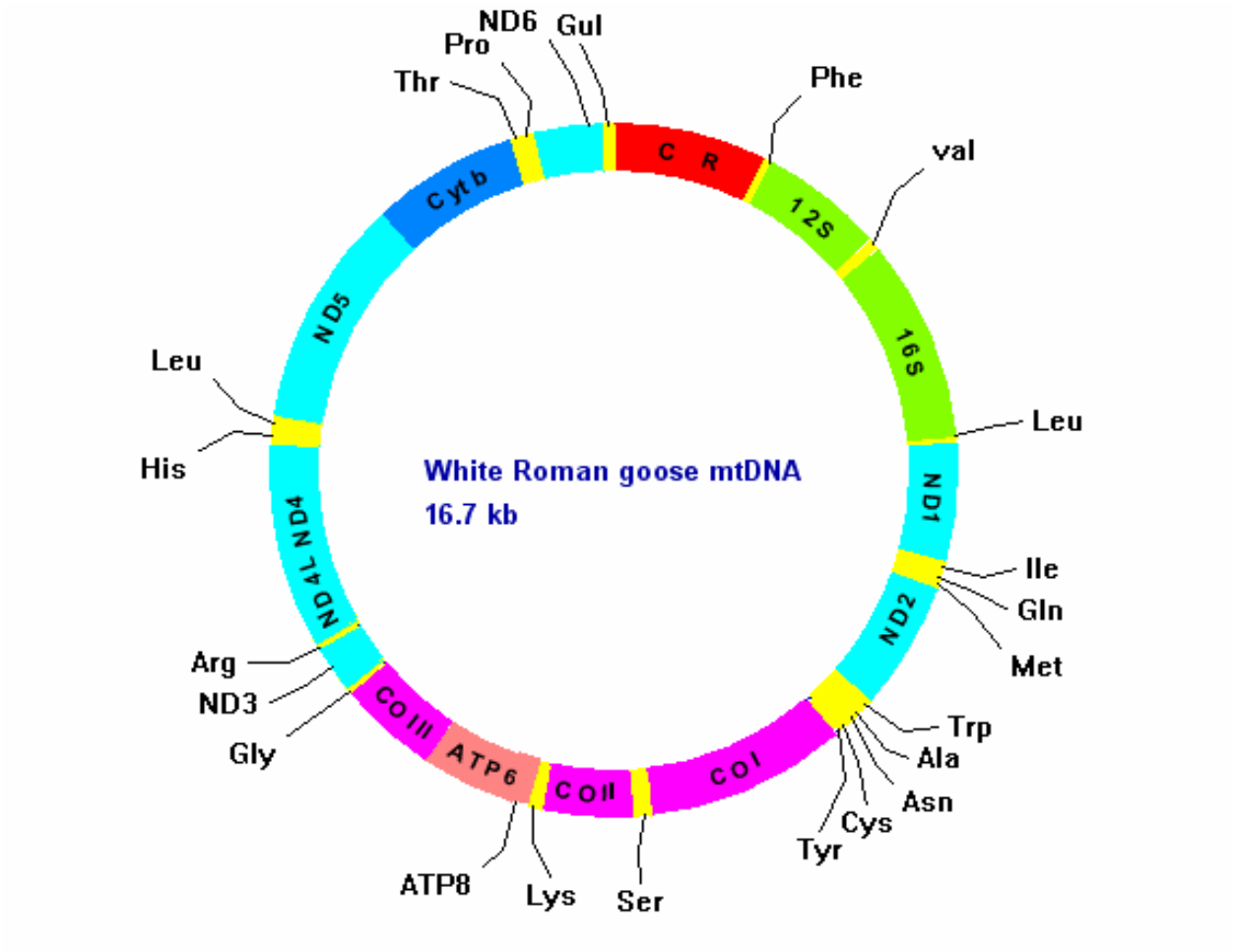

圖1. 白羅曼鵝粒線體DNA基因組。包含2個rRNA (12S, 16S rRNA)，13個蛋白質編碼基因，22個tRNA (以胺基酸的三個字母縮寫表示)。

白羅曼鵝在演化關係圖譜中的位置

白羅曼鵝粒線體DNA 的控制區介於$tRNA^{Glu}$與$tRNA^{Phe}$基因之間(圖1)。一般而言，粒線體DNA中控制區為變異最大的區域，常被用於種內演化關係的分析。另一方面粒線體DNA的Cyt b則常被用於種別間的分析。

以白羅曼鵝粒線體DNA中Cyt b基因的DNA序列，經NCBI資料庫的比對，在distance tree中，白羅曼鵝的演化關係與馴養鵝隻(AY427814; AY427804; AY427802)最為接近且自成一群，由此得知白羅曼鵝屬於馴養鵝隻(domestic goose)。另以白羅曼鵝粒線體DNA控制區的DNA序列，經NCBI資料庫比對，在distance tree中，白羅曼鵝的演化關係圖譜如圖2。由於羅曼鵝起源於2000年前的義大利，再經篩選全部羽毛均為白色者為白羅曼鵝。故白羅曼鵝在演化關係圖譜中的位置與 Tundra Bean goose (AF159965)最為接近，其與中國

鵝(Chinese goose, AY 552168)的親屬關係則相對較遠。

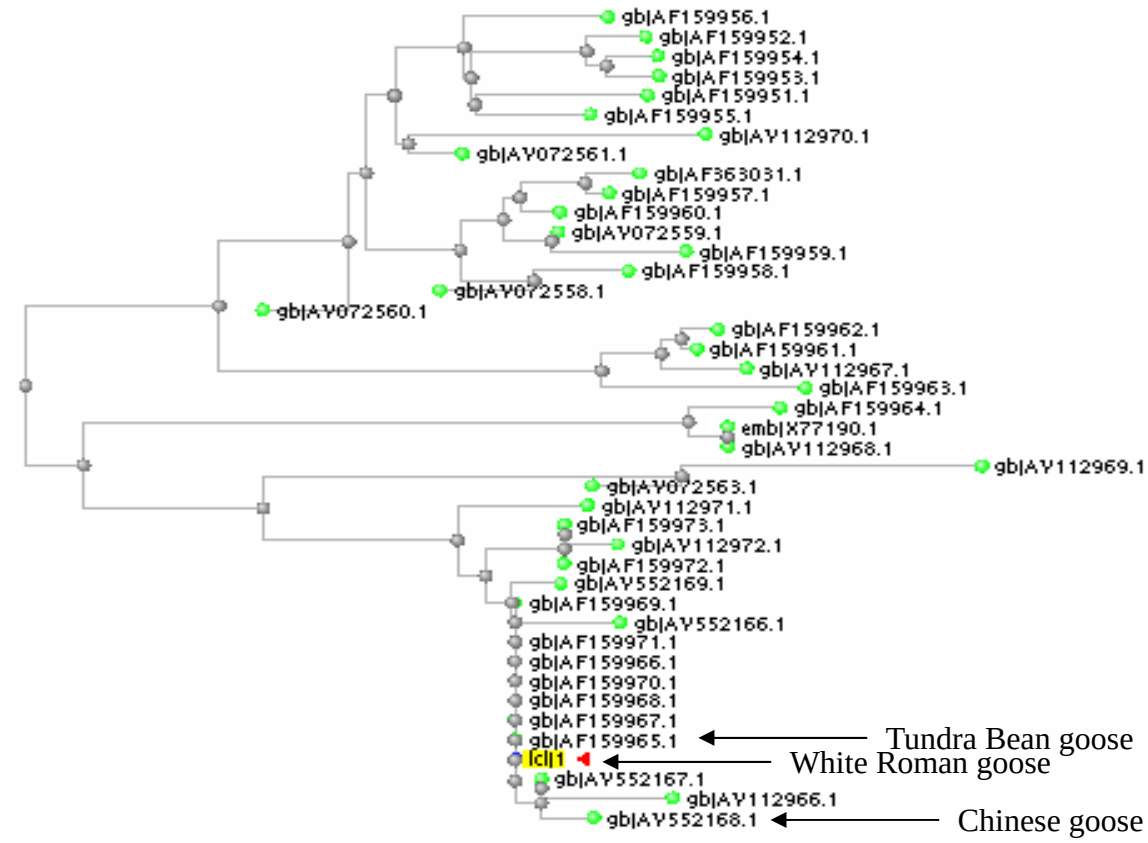

圖2. 白羅曼鵝在演化關係圖譜中的位置