

毛細管電泳在作物分子定型之應用

張瑞炘

摘 要

分子定型(molecular typing)是利用蛋白質或 DNA 等生物分子，對生物進行鑑定與分型的過程，在人體基因組的親緣鑑定及病原體控制之領域尤其重要，相同的技術亦可應用在作物之定型。DNA 分子標誌的種類眾多，其中 SSR(simple sequence repeat)為臺灣目前作物分子標誌的主流技術，植物個體間的 SSR 長度多型性來自重複單位的數目差異，PCR 增幅的產物長度差異相當細微，採用毛細管電泳儀器可提升電泳之解析度並確認 SSR 之重複數目，毛細管電泳之應用包括品種鑑定與輔助育種等，使用範圍廣並且可搭配通用引子以降低成本，同時增進效率，達成自動化與高通量的目標。

前 言

近年來國際間經常出現流感病毒 H5N1 與 H1N1 之報導，一般民眾對病毒之抗原型名稱漸漸熟悉，其實這也是分子定型的實例，流感病毒分類是依據兩個蛋白質分子 Hemagglutinin 與 Neuraminidase 的定型為基礎。分子定型技術在人體之應用廣泛，例如親緣鑑定與犯罪調查實務中常被利用。分子定型的優點在於僅需少量樣本、檢測結果不易受環境影響、不隨個體生長階段而改變。而分子定型的重要性有許多例子說明，例如大腸桿菌的血清型 O157 與 O121 具毒性，大部分大腸桿菌之血清型皆無毒，具備定型技術可避免造成誤解與恐慌。另外一個例子是登革熱病毒之 A 型與 B 型交叉感染會造成出血性登革熱，單獨感染一型則症狀較輕微，因此環境中病媒蚊病毒定型對於此疾病的監控相當重要。最後一個例子是大家都了解的，人體血型的鑑定對輸血的安全相當重要。分子定型在作物之應用主要為 SSR 分子標誌，適合採用高解析度的毛細管電泳裝置進行分析，本文介紹 SSR 與毛細管電泳在作物品種鑑定與輔助育種之應用技術。

內 容

一、SSR 分子標誌之引子序列開發

作物分子定型常以 SSR 為工具，SSR 是作物基因組中以 1 到 6 個核苷酸為單位重複排列的序列，由於不同品種間在相同基因座有不同的重複數目，造成長度的多型性。在 SSR 基因座的兩側的引子序列為進行 PCR 增幅時必要的資訊，因此引子序列的開發為關鍵步驟。以次世代定序的方式可將全基因組定序，並利用分析軟體搜尋全基因組中的 SSR 序列，進而設計引子序列。另一方面有學者透過網路資料庫中的基因表現片段搜尋 EST-SSR 序列。此外，各國學者發表的文獻有時也會提供相關的 SSR 資訊，是相當實用的 SSR 引子來源。

二、SSR 重複數目之判定

SSR 在各品種間的 PCR 增幅產物差異小，採用毛細管電泳法較膠體電泳法適合，毛細管電泳法之解析度可精細到 1 鹼基對，但即使得知 PCR 產物之大小，亦無法準確定型，因引子重新設計後就會改變同一基因座的重複產物分子量。毛細管電泳分析的目標為判別 SSR 重複數，此數目不會受到引子重新設計而改變。判定各品種重複數的方法，首先須選定基準品種，其他品種皆以基準品種的長度做為比較的依據，接著將基準品種的 SSR 產物定序，經過這些步驟就可以看出長度與重複單位的相對關係。其餘的品種 PCR 增幅產物只需要進行毛細管電泳，即可算出重複數，無須再進行定序。

三、毛細管電泳與 SSR 定型之應用

SSR 與毛細管電泳在品種鑑定方面，可提供更為明確的定型結果，作為品種鑑定的依據。在輔助育種方面可利用通用引子降低檢測成本，一次電泳可同時偵測 4 個基因座。由於一般電泳槽需要耗費大量人力，採用毛細管電泳可同時達到自動化與高通量的目標，節省人為的誤差與勞力負擔。

結 語

作物的分子定型主要利用 SSR 分子標誌，SSR 的 PCR 產物採用毛細管電泳進行分析可提高解析度，並且實現自動化檢測的目標，是作物品種鑑定與輔助育種之重要工具。目前世界各國之作物分子標誌技術發展相當迅速，為克服可能發生

的糧食危機與劇烈氣候之威脅，需要更加精準有效的育種方式，毛細管電泳法可讓未來的作物分子定型與分子標誌輔助育種試驗更加如虎添翼。

參考文獻

1. 林順福 2001 分子標誌在作物育種上之應用 p.21-30 生物技術在農業上之應用 楊盛行編 國立臺灣大學農業陳列館。
2. 謝廉一、吳岱融、胡凱康 2007 利用簡單重複序列標記建立臺灣主要梗稻品種的鑑別技術 植物種苗 9(2): 25-38。
3. Chuang, H. Y., H. S. Lur, K. K. Hwu, and M. C. Chang. 2011. Authentication of domestic Taiwan rice varieties based on fingerprinting analysis of microsatellite DNA markers. *Bot. Stud.* 52: 393-405.
4. Hayden, M. J., T. M. Nguyen, A. Waterman and K. J. Chalmers. 2008. Multiplex-ready PCR: a new method for multiplexed SSR and SNP genotyping. *BMC Genomics* 9: 80.
5. Hill, C. R., J. M. Butler and P. M. Vallone. 2009. A 26plex autosomal STR assay to aid human identity testing. *J Forensic Sci.* 54(5): 1008-1015.