

海鱺肌動蛋白基因選殖及起動子分析

鄭達智、林金榮
水產養殖組

肌動蛋白在所有真核生物中普遍存在，持續且大量地表現，並具有高度保守性，常被應用在許多的生物技術層次上。利用 PCR 及廣泛性引子，從海鱺 genomic DNA 上，選殖出七種肌動蛋白基因異構物，具有非常高度的保守性 (圖 1)。

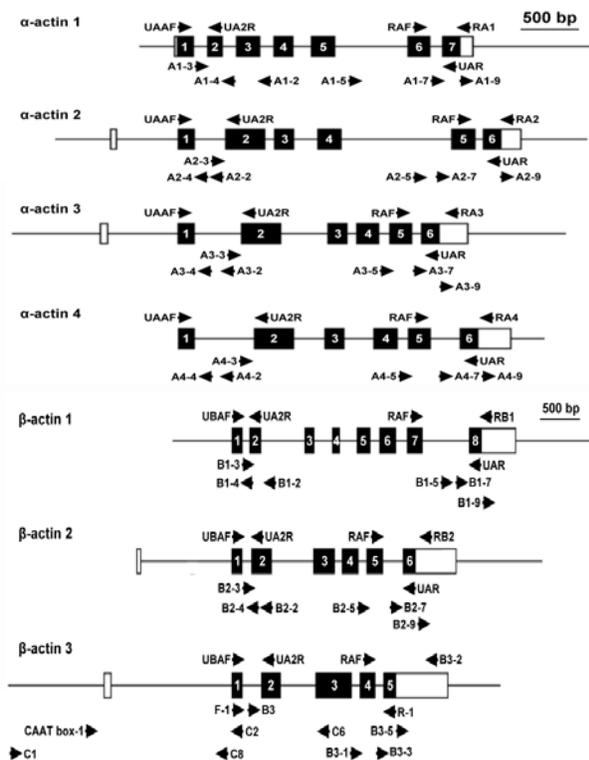


圖 1 肌動蛋白群基因的結構。黑色方塊代表 exon；白色方塊代表未轉譯區；黑色箭頭代表 PCR 引子方向

異構物 mRNA 在各種組織之表現各不相同，四種 α -肌動蛋白除了都會在心臟和肌肉上表現外， α -肌動蛋白 1 在表皮， α -肌動蛋白 2 在鰓和表皮，與 α -肌動蛋白 4 在胃上也表現。三種 β -肌動蛋白則在所有組織皆有表現。根據基因序列比對、轉錄因子結合位置與 mRNA 在各種組織之表現， β -肌動蛋白 3 能

大量的在各種組織上表現 (表 1)。

表 1 肌動蛋白基因異構物 mRNA 在各種組織之表現

	腦	鰓	心	肝	肌肉	皮	胃
α -actin 1	-	-	+	-	+	+	-
α -actin 2	-	+	+	-	+	+	-
α -actin 3	-	-	+	-	+	-	-
α -actin 4	-	-	+	-	+	-	+
β -actin 1	+	+	+	+	+	+	+
β -actin 2	+	+	+	+	+	+	+
β -actin 3	+	+	+	+	+	+	+

進一步分析 β -肌動蛋白 3 啟動子序列，將帶有不同大小的啟動子序列載體轉殖入海鱺腦細胞株內，於 24 小時後偵測其冷光 (Luciferase) 相對強度，發現 β -肌動蛋白 3 啟動子序列為 1836 bp 時，表現能力最強 (圖 2)。

同時亦擴增海鱺體細胞株及吳郭魚體細胞株，凍存於液態氮中，DNA 亦萃取純化後備份凍存。

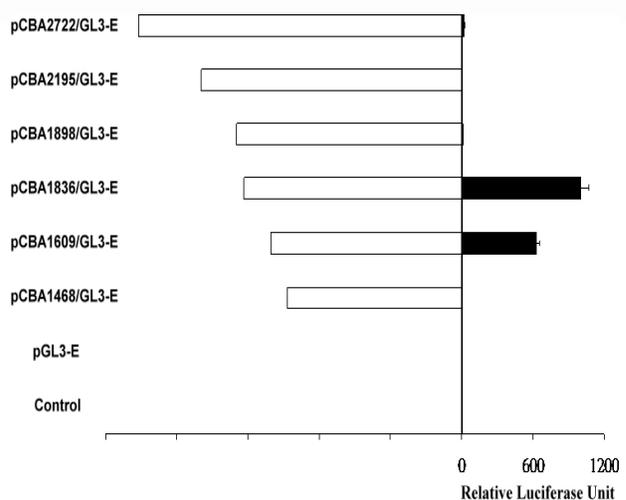


圖 2 比較不同 β -肌動蛋白 3 啟動子序列長度之活性