

比較基因起動子在餌料生物之效率

以往多以傳統遺傳育種方法培養優良種魚，今則多以現代之生物技術，創造轉殖基因種魚，建立優良品系。然而傳統育種遺傳耗費時日，尤其是生命週期長或無法人工繁殖之魚種，而基因轉殖魚則有不易被消費者接受及有衝擊生態環境之顧慮。本計劃的目的在利用餌料生物為生物反應器 (bio-reactor) 及生物載體 (bio-carrier)，也就是把與疾病抵抗相關之基因，轉殖入餌料生物，使餌料生物製造此相關基因產物，再將餌料生物直接投餵給水產生物，以達增加彼等對疾病抵抗能力之目的。基因起動子之效率是細胞有效表達重組蛋白質之重要因子之一。本年度已建構完成含有 NEX-3、CMV、SV-40 基因起動子之生物冷光報導基因載體 (圖 1)，並發展出電穿孔精子及受精卵條件，用來將這些載體轉入牡蠣細胞內，以評估各起動子之強度。結果發現電穿孔能有效使精子帶有外來基因並藉受精作用帶入卵中，且受精之卵可孵化成為幼生，而電穿孔亦能將外來基因直接帶入受精後 90 min 之受精卵內，受精卵亦可孵化成為幼生。應用

精子媒介外來基因方式發現上述 3 個基因起動子在牡蠣細胞中強度依序為 $NEX-3 \geq CMV > SV-40$ (圖 2)，為牡蠣基因轉殖及表達重組蛋白質時選擇起動子之重要依據。

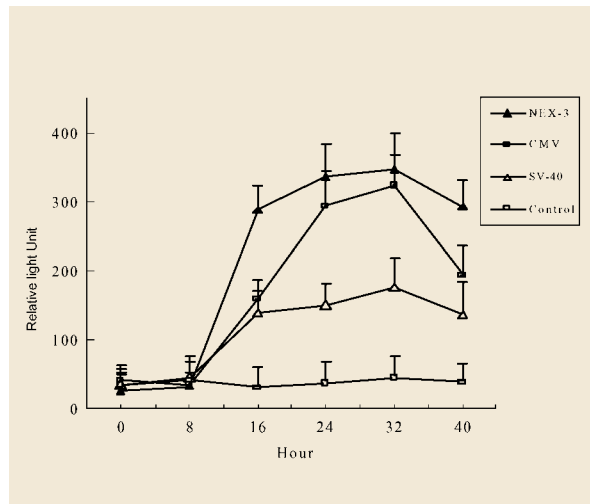


圖 2 Comparison of promoter efficiency in oyster larvae. Vectors containing CMV, NEX-3, and SV-40 promoter were delivered into oyster egg by electroporated sperm. The electroporation conditions were 400 V, 1ms, and 2 cycle. After electroporation, percentage of immobility sperm of extra mobile sperm were added during fertilization

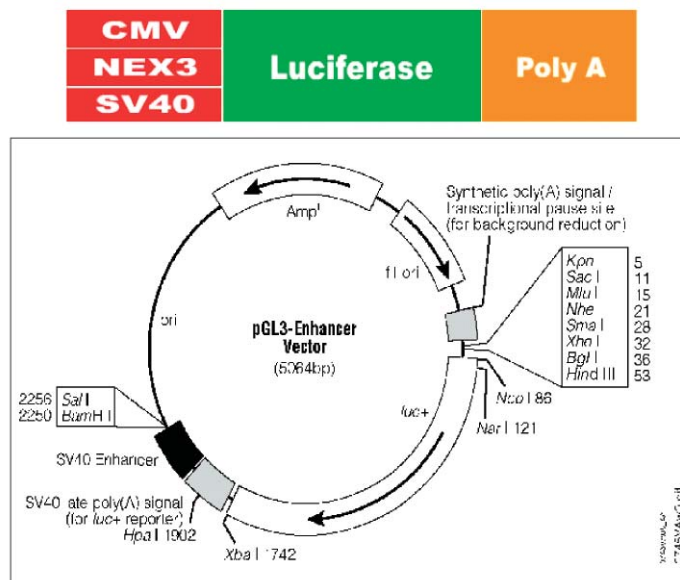


圖 1 The luciferase reporter gene vectors containing different promoters. The CMV, NEX-3, and SV-40 promoters were amplified using polymerase chain reaction (PCR) followed by subcloning into pGL3E vector