五、重要養殖種類育種及餌飼料研究

種原庫保種生物遺傳資料庫之建立

宋嘉軒[1]、陳高松[1]、曾振德[1]、劉姵妤[1]、張致銜[1]、陳佳香[1]、城振誠[2]
[1]企劃資訊組、[2]澎湖海洋生物研究中心

種原庫的主要目的是保種、育種，並建立種原資料以供應應用。本計畫旨在逐步建立以 DNA 序列為主的遺傳資料庫，針對澎湖海洋生物研究中心種原庫中已可人工繁殖之觀賞蝦，應用次世代定序 (next generation sequence, NGS) 技術取得原始序列數據，再以 CLC Genomics Workbench 進行原始序列數據處理 (圖 1) 及 de novo 組裝分析 (如表)，透過 BLAST 的比對分析，找出含有粒線體基因序列的 contig 片段。結果顯示，可找到單一含有粒線體基因片段的種類及長度為：亨氏活額蝦 16,532 bp、油彩蠟膜蝦 15,659 bp、德班氏活額蝦 16,837 bp、花斑掃帚蝦 16,637 bp 及網紋活額蝦 15,159 bp。進一步利用 MITOS 進行粒線體基因位置及數量之預測 (圖 2)。另以 COX1 基因的核酸序列全長進行親緣性分析，總共有 16 分支結點 (node)，其中 2 個為 98%、7 個為 100%，顯示此演化樹之分析具有高重複性。組裝出的 contig 序列片段以 misa v1.0 進行 SSR 的預測分析，從 6 種蝦類預測出含有 SSR 序列的區域數量為：亨氏活額蝦 10,092 個、油彩蠟膜蝦 17,530 個、德班氏活額蝦 47,839 個、花斑掃帚蝦 2,559 個、安波多蝦 4,437 個及網紋活額蝦 33,067 個，未來將利用 SSR 區域兩端的 flanking region 中設計出可進行 PCR 的引子對，進行再現性及多型性的驗證。

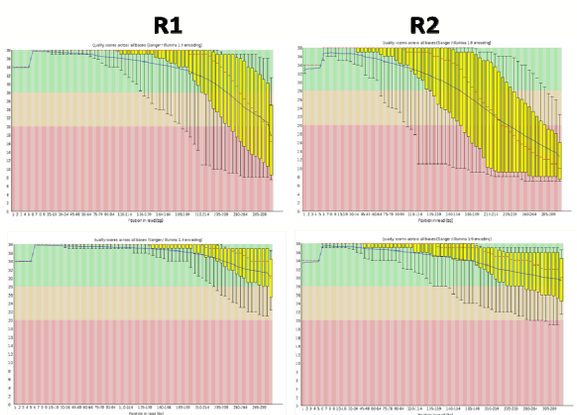

圖 1　原始數據處理去除 (trim) 品質較差之核酸序列

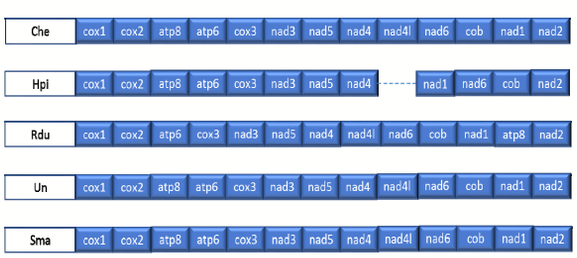

圖 2　以 MITOS Webser 預測粒線體基因序列位置

次世代定序原始序列統計(單位 bp)

	Che	Hpi	Rdu	Sma	Tab	Un
N75	639	713	783	662	816	636
N50	739	866	1,233	843	1,240	725
Minimum	500	500	500	500	500	500
Maximum	59,826	29,057	16,837	16,938	10,290	15,938
Average	820	902	1,186	935	1,169	767
Count	28,964	27,225	2,980	11,394	7,190	90,869
Total	23,737,387	24,566,259	3,533,213	10,658,287	8,403,344	69,715,813

註：1. N75 /N50：評估 de novo assembly 效果的方法之一。將 contig 從大到小排列，從最大的 contig 開始進行長度的累加，當累加長度達到全部 contig 總長度的 75%/50% 時，該 contig 長度為 N75/N50
2. Minimum/Maximum：組裝後 contig 最小/最大片段之長度；Average：組裝後所有 contig 平均長度；Count：組裝後所有 contig 的條數；Total：組裝後所有 contig 的鹼基數。Che：亨氏活額蝦；Hpi：油彩蠟膜蝦；Rdu：德班氏活額蝦；Sma：花斑掃帚蝦；Tab：安波多蝦；Un：網紋活額蝦