



以次世代定序解析臺灣養殖文蛤之轉錄體及相關遺傳分析

黃慶輝、吳嘉哲
水產養殖組

文蛤為臺灣重要的養殖貝類，隨著消費需要生產規模亦逐漸增加，然而近年如生長停滯、偶發及季節性死亡等問題也時有發生，是文蛤產量不甚穩定的主因。前述問題初步推測可能為季節轉換氣溫變化劇烈、養殖密度過高、水質環境惡化等因素所造成；另長久以來對於貝類基因體之相關研究較少，缺乏相關基因體及序列資料導致對貝類的分子及生理生化機轉不夠瞭解，亦對貝類育種及養殖的發展造成阻礙。目前市面上可見之文蛤大致有韓文蛤 (*Meretrix lamarckii*)、文蛤 (*M. lusoria*)、皺肋文蛤 (*M. lyrata*)、臺灣文蛤 (*M. meretrix*) 及中華文蛤 (*M. petechialis*) 等 5 個物種，均可在臺灣各地發現。本計畫使用聚合酶連鎖反應 (PCR) 及次世代定序技術 (NGS) 作為本研究基因遺傳分析之主要工具，並針對最主要之養殖文蛤物種之轉錄基因體展開研究，期能改善目前文蛤養殖遭遇之相關問題。

有關臺灣主要養殖文蛤系群評估部分，以 PCR 擴增產於雲林臺西、嘉義東石 52 個文蛤個體之粒線體 COI 基因 (母系來源) 序列，結果其中有 49 個體屬同一系群，3 個體屬另一系群。本結果可瞭解臺灣養殖文蛤養殖系群 (母系) 之大致分布情形，供後續次世代定序對象個體挑選參考。

有關次世代定序解析文蛤轉錄體 (transcriptome) 研究，本試驗將同一養殖場來源之臺灣養殖文蛤，分別飼養於相同環境條件 (鹽度、水溫 (約 24°C) 及餵食頻率) 之 AB 水族缸 1 週後，先將 B 缸之水溫於 24 小時內由 24°C 提高至 34°C，並於 34°C 維持 3 小時；A 缸溫度維持 24°C 不變，再分別由 A 缸及 B 缸取文蛤樣本解剖，取出鰓樣本，並抽取 RNA 後進行反轉錄及次世代定序，以比較有無加溫處理之文蛤之間，其相關基因表現量之變化。

完成次世代定序的文蛤轉錄體序列，經由 Function Annotator pipeline 進行序列註解 (annotation)，再由 NCBI Blastx 等進行序列比對之結果顯示文蛤轉錄體其序列與 NCBI 現有相關無脊椎動物之序列資料相似度較低 (如表)，比例最高之太平洋牡蠣亦僅有 33.6% 之相似度，且可能因軟體動物序列資料不完整等緣故，有些序列其最接近之物種為海豆芽等較為原始之無脊椎動物。另經由比較有無加溫處理採樣之文蛤轉錄體序列之表現量差異，目前篩選出 11 個可能與耐溫相關之候選基因，惟仍須進一步測試以確認。

文蛤轉錄體與美國國家生物技術資訊中心 (NCBI) 相關無脊椎動物之序列相似度比對表

物 種 名 稱	比對序列數量	百分比 (%)
太平洋牡蠣 <i>Crassostrea gigas</i>	10,411	33.64
霸王蓮花青螺 <i>Lottia gigantea</i>	2,668	8.62
鴨嘴海豆芽 <i>Lingula anatina</i>	1,864	6.02
加州海兔 <i>Aplysia californica</i>	1,487	4.80
加州雙斑蛸 <i>Octopus bimaculoides</i>	1,379	4.46
蘋果螺 <i>Biomphalaria glabrata</i>	1,023	3.31
囊舌蟲 <i>Saccoglossus kowalevskii</i>	697	2.25
海蠕蟲 <i>Capitella teleta</i>	691	2.23