

日本鰻微衛星 DNA 基因座之選殖

簡春潭・賴竹蘭・陳春暉

漁業生物系

日本鰻 (*Anguilla japonica*) 是台灣之重要養殖魚種，由於其人工繁殖尚未成功，養殖所需之鰻苗均撈捕自天然海域。近年來鰻苗產量已逐漸減少，本所為增加鰻苗產量，自 1976 年起逐年實施種鰻放流，但放流效果如何？至今仍無定論；日本鰻是否為單一族群？至今亦莫衷一是。要釐清上述問題，擬以微衛星 DNA (microsatellite DNA) 作為基因標識，進行族群遺傳分析。本報告即摘述日本鰻微衛星 DNA 基因座選殖之結果。

使用限制內切酶 (*Alu I*、*Pal I* 及 *Rsa I*) 剪切日本鰻之 genomic DNA，以瓊脂糖膠電泳分

離、萃取長度 300~800 bp 之 DNA 片段，並與 pUC18 質體接合，再轉形至大腸桿菌 (*E. coli*) 中培養，就 2512 株轉殖成功之 *E. coli* 菌株，使用經 P^{32} - γ ATP 標記之 (GA)₁₀ 及 (GT)₁₀ 探針進行點墨分析 (dot blot)，篩選出 145 株 X 光顯影明顯之菌株進行 DNA 序列分析，結果其中 117 株具有 (GA)_n、(GT)_n、(CT)_n、(CA)_n、(GT)_n (GA)_n、(GT)_n (GC)_n、(CA)_n N_n (CA)_n、(GT)_n N_n (GT)_n 等多種形式之微衛星 DNA 序列，選取其中 12 個微衛星 DNA 基因座設計 12 組引子 (primers) (表 1)。

表 1 Primer sequence of microsatellite loci for *Anguilla japonica*.

Locus	Repeat motifs	Primer sequence (5'-3')	Annealing temp. (°C)
AJM1	(AC) ₁₀	F: AGTAAAGAGTCCCACGCATTC R: AAGGTGGATTTTTGCTGGCTC	56
AJM2	(GA) ₃₉	F: AAACGTCCGCGGTCTGGAGGAAG R: AATGAGATCGATTCTGCTCTG	58
AJM3	(GT) ₁₀	F: GGATATGTCCATTGGTCTGC R: TTGTGCAGATACCAGTAGATC	56
AJM4	(GT) ₁₅	F: ACTGTGACAGGTTGTTTGAGG R: TGCACCTGGTTCATTTTCTG	58
AJM5	(AC) ₁₀	F: CCCTGCTAAGGTTACAATG R: TGATTACGAATTCGAGCTCGG	56
AJM6	(GT) ₁₈	F: CACCATGAAATGTATTCTGAG R: TTGCAGAGCACTGACCTCATTC	56
AJM7	(AC) ₁₅	F: AGTAGTGACGAGAAGCAGC R: TGATTACGAATTCGAGCTCGG	56
AJM8	(GT) ₁₃	F: AGGCTGAAGTGAGTATGCTCAG R: AGATATGGAAGCAGGATGGAG	58
AJM9	(AC) ₁₄	F: AAATACATCCAGACTGGAGCC R: AATAGCCCATAGGTGTGCGTGC	56
AJM10	(GT) ₁₁	F: ATGGAATGCAAATCCTGCTCC R: AATTCGAGCTCGGTACCATC	56
AJM11	(GT) ₂₂	F: ACACACAACATCCAGAGAGG R: ATTTGCTTGTCCCTGTTCCCTG	56
AJM12	(AC) ₁₇	F: AATAAACTCAGCCCGACAGTGG R: TGATTACGAATTCGAGCTCGG	58

F : Forward ; R : Reverse