

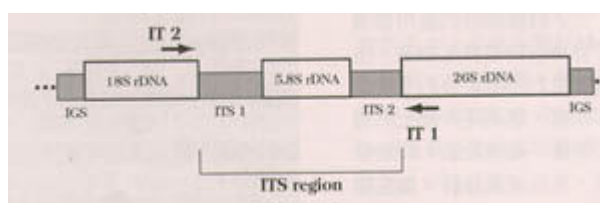
聚合鋤連鎖反應在基因選殖上之應用～

菊花核糖體核內轉錄間隔區之選殖

台中區農業改良場／蔡奇助、黃勝忠

菊花品種繁多，在中國及日本的栽培歷史已有 3,000 年。因其花型花色變化多，瓶插壽命長，為一世界性之重要切花，亦為台灣第一大宗切花作物。

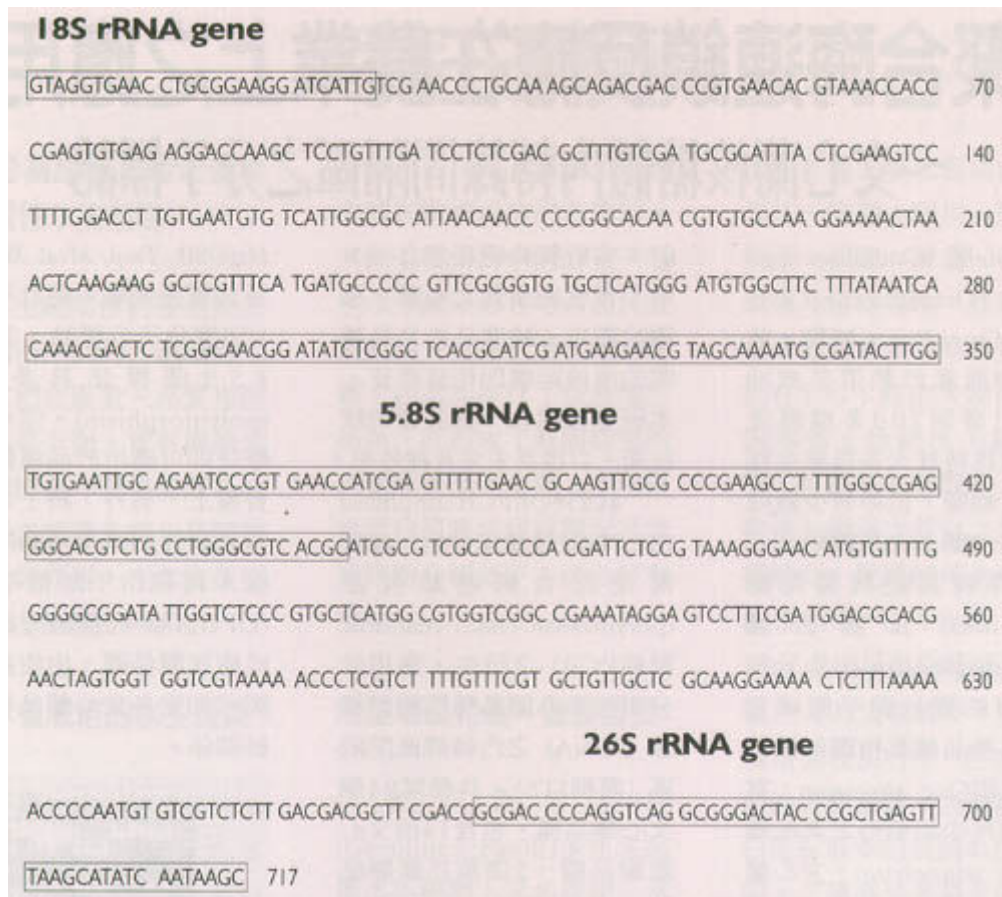
真核生物的核糖體核酸(簡稱 rDNA)是一群成縱線排列的重覆性基因家族，位於染色體的核仁組成中心。上述 rDNA 通常集中在同一染色體中，也可能分散於不同染色體。而且每個重覆單位包含一段可被轉錄的密碼序列(即基因區)，和一段非轉錄的基因間隔區(簡稱 IGS)。可轉錄的密碼序列中，包含 18S、5.8S 及 26S rRNA 等三個基因，其中 5.8S rRNA 基因分別與 18S 及 26S rRNA 基因間各有一個內轉錄間隔區(簡稱 ITS)(圖一)。上述 rRNA 基因在蛋白質合成，生物體生長、發育與生殖上扮演重要角色。另外，在 rDNA 之結構中，18S、5.8S 和 26S rRNA 基因之序列在不同物種間相當一致；但不同種內、族群中，ITS 和 IGS 之長度及序列上常有很大變異。因此，ITS 與 IGS 之 DNA 序列可提供一些有用的分子標誌供應用。



圖一、rDNA 的基本結構，及 PCR 複製核糖體核酸(rDNA)基因間隔區 (ITS)時，引子(IT1 及 IT2) 所在位置。

本研究欲利用聚合鋤連鎖反應 (polymerase chain reaction, 簡稱 PCR) 將菊花 rDNA 之 ITS 選殖出來。由基因庫序列比對研究，於 18S rRNA 基因的 3'端與 26S rRNA 基因的 5'端的序列保留區各設計一條 15mer 的引子，可將寒紅梅 (*Chrysanthemum morifolium* Ramat 'Cold Homae')，紅貴妃('Red Gafe')，黃秀芳('Yellow Shuho')，白秀芳 ('White Shuho')等 4 個菊花品種及紅貴妃 x 寒紅梅 [Red Gafe (♀) x Cold Homae (♂)]，黃秀芳 x 白秀芳 [Yellow Shuho (♀) x White Shuho (♂)]，黃秀芳 x 寒紅梅 [Yellow Shuho (♀) x Cold Homae] 等 3 個台中區農業改良場雜交品系的 rDNA 之 ITS 有效選殖。聚合鋤連鎖反應之複製產物長度為 747 bp，各品種長度一致。將其中一品種進行定序，扣除兩端引子長度，及部分基因區，菊花 ITS 之

長為 638 bp(圖二)。



圖二、菊花紅貴妃品種 5.8S 核糖體核酸(rRNA)基因及內轉錄間隔區(ITS)之序列。圖中區塊即為基因區，由上而下分別為 18S, 5.8S 及 26S rRNA 基因區。

由上述研究顯示，我們所設計之引子組，確能利用 PCR 有效的將菊花 rDNA 之 ITS 加以選殖，而且並非僅針對某個品種，而是各種菊花品種(系)皆能有效選殖。未來可藉著分析 ITS 區域來尋找各菊花品種(系)的分子標誌，以便可應用於育種及品種專利上。另外，亦可以此基因選殖系統為基礎，選殖更多農藝及園藝性狀優良之基因，從事基因轉殖，創造出優良的基因改造品種，以提昇我國農業競爭力。