

作物品種的別名－DNA條碼

作者：黃佳興 助理研究員、
王啟正 助理研究員
作物改良課
園藝研究室
電話：(03)8521108轉300

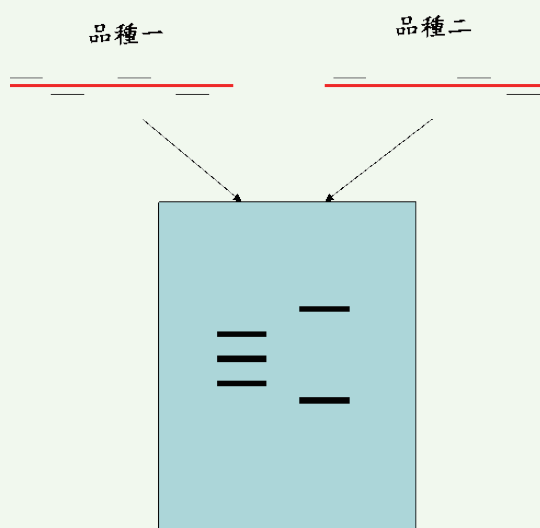
前言

現今社會中商品的貿易日益頻繁，而在農業貿易中農產品大部份為田裏採收的作物，一個好的作物品種即是一個好的商品，代表著其潛在的獲利能力，每年世界各國有許多作物新品種的育成，但每個作物的特性都不一樣，更是育種人員經過多年努力的成果，因此為了保護育種者智慧財產權的成果，品種權的保護更要注意，在科技日新月異的現在，若能開發作物DNA條碼使其形成一種在品種鑑定上通用的條碼，除了能防止作物侵權的產生，也定能在未來的貿易中扮演更重要的角色。

DNA條碼介紹

作物的DNA條碼係指作物的DNA指紋分析(fingerprinting)，就像每個人有著屬於自己的指紋一樣，每一個作物品種也會有屬於它的DNA指紋(條碼)，那DNA條碼又如何產生呢？主要是由隨機擴增多型性DNA(random amplified polymorphic DNA，RAPD)、間帶

簡單重複序列(inter-simple sequence repeat, ISSR)、增殖片段長度多型性(Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP)、單核苷酸多型性(Single Nucleotide Polymorphism)及簡單重複序列(simple sequence repeats, SSRs)等幾種技術產生，下面就簡單介紹這幾種技

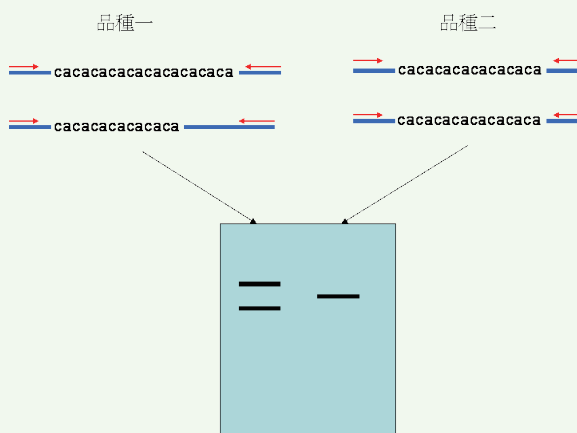


▲圖一、RAPD圖示，紅色線條為基因組DNA，黑色線條為RAPD之引子，因基因組序列在兩品種不同，PCR後經電泳分析便產生不同的條帶。

術。

RAPD應用逢機合成10個核苷酸的引子，經過PCR反應，即DNA變性，引子與模板鏈合及DNA放大三個步驟來放大DNA片段，如圖一，因兩不同作物品種有其特異的DNA序列，造成引子鏈合的位置不同，因此被放大的DNA片段也因而不同，並經過凝膠電泳進行分離，結果在不同作物品種間便會產生不一樣的複雜圖案。

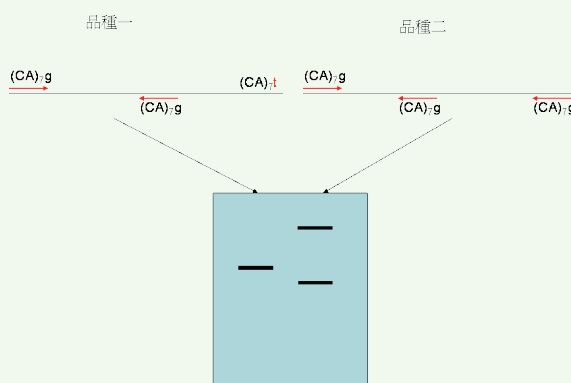
SSR就是簡單重複序列又稱微衛星序列，主要是因生物的基因組DNA中富含以2~6個鹼基對為單位重複排列所形成之的小片段DNA，而這些鹼基的重複數量在不同作物或不同品種間具有非常高的變異，因此可用來作為作物品種鑑定的依據，目前也是應用價值最高的DNA指紋辨識技術；微衛星DNA指紋分析技術，主要是針對微衛星基因座中重複序列兩側的序列，設計高度專一性的引子對，以基因組DNA為模板，進行聚合酵素連鎖反應，由於不



▲圖二、SSR圖示，英文字母代表鹼基對的重複，紅色線條為引子，藍色線條為鹼基對兩旁序列，因不同品種鹼基對重複數目不同，PCR後經電泳分析便產生不同的條帶。

同作物品種間的重複序列長度會有變異，因此可作為鑑定的依據，如圖二，兩個不同作物品種間因鹼基對重複數目的差異，經過PCR及電泳分析產生了不同條帶的圖形。

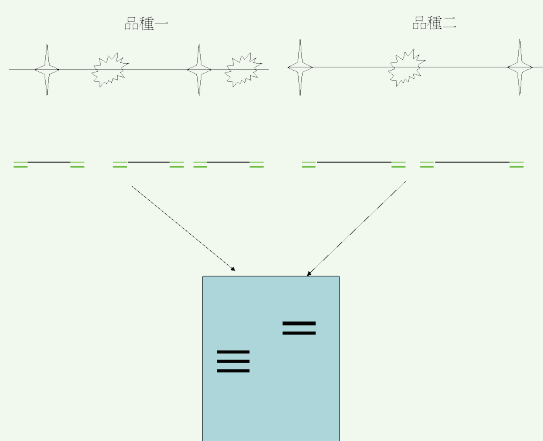
ISSR技術的通常以二或三核苷酸重複7~8次後在重複核苷酸的其中一端加上1~4個核苷酸，引子總長約17~22bp，如(AT)8G、(ACT)7G或G(AT)8，以此引子進行PCR擴增，利用一端加上1~4個核苷酸的引子可準確的鏈合在簡單重複序列的兩端，放大的片段是兩段SSR間的序列，因DNA序列與引子煉合的位置可能發生突變，或者在兩SSR間的序列發生插入或缺失使擴增後的DNA片段表現出多型性；此外DNA產物產生多型性的原因還包括簡單重複序列本身的長度變異。以圖三來說，品種二因序列和品種一不同，所以多了一條不同的條帶。



▲ 圖三、ISSR圖示，黑色線條為基因組DNA，紅色線條為ISSR引子，因兩品種基因組序列不同引子鏈合位置不同，PCR後經電泳分析便產生不同的條帶。

AFLP首先以能辨認特定序列的限制酵素將基因組切割成為片段，然後利用限制片段切口具有「專一辨認序列」的特點，使PCR反應

時所用的引子在與DNA模板鍵合時條件更加嚴格，而提高了PCR 結果的再現性，操作上用二種限制酶切割DNA後，再以雙股DNA接合子(adaptor)黏合於DNA片段二端，並利用接合子序列當作引子進行PCR，兩品種間因限制酶切割片段的不同因此最後PCR產物便產生了多型性，如圖四。



▲圖四、AFLP圖示，黑色線條為基因組DNA，線條上不同符號代表不同限制酵素切割點，綠色線條為利用接合子設計引子，因兩品種因切割片段不同，PCR後經電泳分析便產生不同的條帶。

SNP是指利用生物基因體中DNA序列存在的變異，DNA序列為ATCG四種核苷酸組成之排列組合，一般情況在單一位置只會出現一種核苷酸，但某些特定位置會同時出現兩個不同的鹼基對，如A/T或A/C等，這種情況就是所謂的SNP，也因為這些變異的數量非常多，因此應用性極廣。

DNA條碼技術比較及未來應用

進一步比較前述五種方法，其中ISSR、

RAPD和AFLP的優點是不需由已知的序列設計引子，SSR及SNP的技術則需要知道此一資訊，但SSR技術的好處是微衛星序列在真核生物的基因組中較具多型性，而SNP在基因組中最豐富，兩種方法的再現性也較高，因此目前國際間承認之主要技術為SSR及SNP。

目前的作物品種鑑定主要還是依照外表型來判別，但外表可以判別又為何要研究新的方法呢？因為現行的判別方法有一些缺點，例如無法從產品直接看出為何品種，農產加工品更無法判斷，在未來農業面對全球化的競爭勢必走向更精緻化，無論是生產過程或是品種名稱都必須讓消費者知道，因此作物DNA條碼的應用便成為一個可行的方法，雖然此方法有著許多的優點，但作物的DNA條碼目前尚無世界各國統一的規範，也沒有一致的資料庫可供不同國家間比對，而且伴隨著作物基因體定序的進展，勢必有新的條碼出現，同樣的也會有一些被淘汰，這都是作物DNA條碼尚待研究的部份。

結語

本場近年來研發許多作物新品種，如苦瓜、番茄及青蔥等，並已針對苦瓜及番茄進行了DNA條碼的相關研究，除了能使本場研發的作物有多一層的保護之外，也能在品種侵權問題發生時多了一種鑑別技術可供參考。