

分類鑑定

微藻藻種鑑定

微藻是一群會行光合作用的生物，可存在於淡水或海水中，目前可分為原核微藻與真核微藻，具有廣大的應用面。生資中心於 103 年度起增加微藻生物材料之收集與保存，建立藻株的冷凍及繼代保存系統、藻種的鑑定技術及藻株之收集與提供制度，並已導入 ISO 的流程管理，成為我國第一個國際級收存藻種的菌種中心。本中心藻株之保存型態主要以繼代保存與超低溫冷凍保存兩種方式，目前微藻庫資源共保存 200 多株微藻。除了開發本土微藻資源，主要服務項目包括藻種保存、藻種鑑定、藻株放大培養、藻株的提供及人員培訓等。近年來本所除了提供保存藻株之相關服務，也參與能源局「新及再生能源開發計畫」，進行微藻資源庫之建置與產油固碳微藻之篩選，分別進行本土淡水微藻與海水微藻收集與保存，建立本土微藻核醣體 DNA 資料庫。篩選高產油藻株與其他潛力微藻進行脂肪酸組成分析，以提供產學相關研究。並積極進行微藻資源推廣，協助微藻培育等相關技術之普及化，以推動微藻產業發展。

項目說明

微藻鑑定，傳統的主要方法是利用顯微鏡進行藻體形態特徵的差異與生理生化特性檢測，對於微藻形態差異較大的藻屬，形態學描述是最直接明確的方法，可初步區分。但是對於多數微藻其體積微小、結構簡單、形態差異微小，而且同種微藻在不同生長條件下也有形態差異，以形態學進行分類鑑定有其困難度，生理生化檢測由於藻種差異大亦無法有效標準化。越來越多的研究者認為，形態上的差異無法成為藻種鑑定及系統發育關係的指標。由於分子生物學的成熟發展，其利用具有代表性的序列片段作為分類標準，來區分不同屬或是同種不同株之間的遺傳差異，具有方法操作容易和結果明確之優點，在微生物的鑑定上已成為主要的分析方法，如今也被廣泛的應用於微藻的分類鑑定研究中。

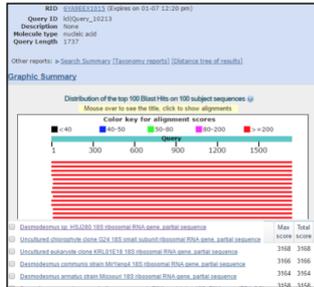
目前生資中心對於微藻之鑑定，建立了微藻分子生物鑑定方式 (圖二)，依據藻種的多樣性已建立不同藻屬核糖體 RNA 基因 (rDNA) 和轉錄間隔區 (ITS) 序列基因檢測操作，偵測基因包括 16S rDNA、18S rDNA、23S rDNA、ITS 等基因片段及其他特殊基因例如 *rcbL* (RuBisCO 加氧酶) 基因等。將藻株染色體抽取純化後，以檢測基因的特異引子進行 PCR 反應，擴增出檢測基因片段。分別以定序引子與 ABI BigDye V.3.1 試劑進行檢測基因片段的定序 PCR 反應，再以 ABI 3730 定序儀進行 DNA 定序分析。得到的序列先以 Vector NTI 之 ContigExpress 程式進行序列組裝，確認檢測基因片段序列。於 NCBI 生物資訊網站中進行 BLAST 比對分析，可得知藻株與資料庫中最相近的藻種名以作為鑑定參考。對於藻種鑑定，也會加入親緣樹的分析方法，利用藻株 DNA 序列進行定量的計算，以 MEGA 分析軟體找出演化關係之親疏，可得到分子類緣關係樹，做為微藻鑑定之另一參考。另外亦須輔以顯微鏡鏡檢，比對藻株的形態，並參考相關研究資料以增加其正確性。對於微藻鑑定須經由多重方法分析與專業判斷，以得正確之藻種名。

藻種分子鑑定流程

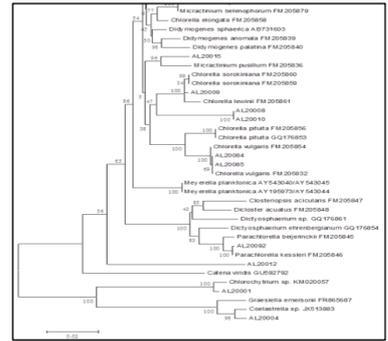


確認藻種名稱

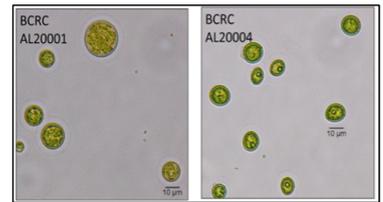
藻種名稱分析
多項檢測資料
進行分析確認



NCBI 資料庫比對



分子類源關係樹分析



顯微鏡形態觀察

***Chlorella sorokiniana* (formerly *C. vulgaris*) UTEX 2714, a non-thermotolerant microalga useful for biotechnological applications and as a reference strain**

Yvan Buhac^{1,2,3}, Blanca R. Lopez¹, Valer A. R. Hinc¹, Edgar Amaviza¹, Luz E. de-Buhas^{1,2,3}

Received: 11 February 2013 / Revised: 17 March 2013 / Accepted: 19 March 2013
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2013

Abstract Molecular analyses employing sequencing of the complete ribosomal RNA cistron (18S rDNA, ITS1, 5.8S rDNA, ITS2, and 28S rDNA) and transcriptome analysis of the *Rubisco* gene (*rbcL*) were done on *Chlorella vulgaris* UTEX 2714. The constructed phylogenetic trees showed that *C. vulgaris* UTEX 2714 is *Chlorella sorokiniana*. Growth analysis and production of chlorophyll *a* over a range of in-culture cultivation temperatures (27–48 °C) showed that this *Chlorella vulgaris* by microscopic observation

文獻參考