

結果

一、ETR-1 和 muscleblind 在線蟲相關的基因

將線蟲的 RNA 抽取出後進行 RT-PCR，以 PCR 的方式（表一）放大 Etr-1 和 muscleblind 的基因，經純化後做 DNA 定序，附圖一為 Etr-1 各 isoform 比對結果，Etr-1a 與 NCBI 上的 Etr-1a 資料 (GI:1289521) 相符。相對於 Etr-1a，Etr-1c 少了 exon7 多了 exon9，Etr-1d 少了 exon5 和 exon7 多了 exon9，Etr-1e 少了 exon7 和 exon9 (圖二)。線蟲 muscleblind 目前尚未正式命名，在 NCBI 上的代號為 K02H8.1 (GI:1519701)，圖四是與果蠅、小老鼠和人類的 muscleblind 胺基酸序列做比對，由圖五可知線蟲與果蠅較為接近，與小老鼠和人類的差異較遠。我們 clone 的 K02H8.1 以 MB-A 和 MB-b 稱之，其核苷酸差異與 NCBI 上登錄的 K02H8.1 差異為 MB-a 少了 exon5 多了 exon4，MB-b 少了 exon5 和 exon6 (圖六)。以 PCR 的方式放大 Etr-1 和 muscleblind 的基因後，用 *Xba*I 和 *Nco*I 切成粘端的 insert，再把兩個 vector 49.78 和 49.83 以 *Nhe*I 和 *Nco*I 切成粘端，再將 insert 和 vector 接合形成 compatible end，方法如圖三和圖七。

二、RNA interference (RNAi)

RNA interference (RNAi) 的質體構築方法如圖八。圖九為 RNAi 的結果；L4440 為 vector only 結果與 muscleblind 一樣，muscleblind

在此次實驗中並沒有產生干擾作用，可能的原因推測是 IPTG 的濃度影響，或者是 muscleblind 與線蟲的發育無關，而 Etr-1 則產生肥大及體型異常胚胎致死現象，與之前報告的結果一樣。