

A.

		1	10	20	30	40	51
AAB87898	(1)	mdsfaavatqlgphfaalsngsvvdkvtpdmahlispywnqfpamdpiwak					
AAO01038	(1)	merlrsfaavatqlgphfaalsngsvvdkvtpdmahlispywnqfpamdpi					
ninaE	(1)	mesfavaaaqlgphfaplsngsvvdkvtpdmahlispywnqfpamdpiwak					
AAO01119	(1)	mdsfaavatqlgphfaalsngsvvdkvtpdmahlispywnqfpamdpiwak					
P28678	(1)	mdsfaavatqlgpqfaapsngsvvdkvtpdmahlispywdqfpamdpiwak					
AAB31030	(1)	kvtpdmahlispywnqfpamdpiwakiltaymiiigmi swcnggvviyifa					
P22269	(1)	merystpligpsfaaltngsvtdkvtpdmahlvhpwywnqfpamepkwakfl					
AAO01095	(1)	meraaqlgphfaplsngsvvdkvtpdmahlispywnqfpamdpiwakilta					
		52	60	70	80	90	102
AAB87898	(52)	iltaymiiigmi swcnggvviyifattkslrtpanllvinlaisdfgimit					
AAO01038	(52)	wakiltaymiiigmi swcnggvviyifattkslrtpanllvinlaisdfgi					
ninaE	(52)	iltaymimiqmi swcngqvviyifattkslrtpanllvinlaisdfgimit					
AAO01119	(52)	iltaymiiigmi swcnggvviyifattkslrtpanllvinlaisdfgimit					
P28678	(52)	iltaymiiigmi swcnggvviyifattkslrtpanllvinlaisdfgimit					
AAB31030	(52)	ttkslrtpanllvinlaisdfgimitntpmmginlyfetwvlgpmmcdiya					
P22269	(52)	aaymвлиatiswcnngvviyifattkslrtpanllvinlaisdfgimitnt					
AAO01095	(52)	ymiiigmi swcnggvviyifattkslrtpanllvinlaisdfgimitntpm					
		103	110	120	130	140	153
AAB87898	(103)	ntpmmginlyfetwvlgpmmcdiyaglgsa fgcssiwsmcmi sldryqviv					
AAO01038	(103)	mitntpmmginlyfetwvlgpmmcdiyaglgsa fgcssiwsmcmi sldryq					
ninaE	(103)	ntpmmginlyfetwvlqppmcdiyaglgsa fgcssiwsmcmi sldryqviv					
AAO01119	(103)	ntpmmginlyfetwvlgpmmcdiyaglgsa fgcssiwsmcmi sldryqviv					
P28678	(103)	ntpmmginlyfetwvlgpmmcdiyaglgsa fgcssiwsmcmi sldryqviv					
AAB31030	(103)	glgsa fgcssiwsmcmi sldryqvivkgmggrpmtiplalgkiayiwfms					
P22269	(103)	pmmginlyfetwvlgpplmcdiygglgsa fgcssilsmcmi sldrynvivkg					
AAO01095	(103)	mginlyfetwvlgpmmcdiyaglgsa fgcssiwsmcmi sldryqvivkgma					
		154	160	170	180	190	204
AAB87898	(154)	kgmagrpmtiplalgkiayiwfmsi wclapvfgwsryvpegnltscgidy					
AAO01038	(154)	vivkgmagrpmtiplalgkiayiwfmsi wclapvfgwsryvpegnltscg					
ninaE	(154)	kgmagrpmtiplalqkiayiwfmsi wclapafgwsryvpegnltscgidy					
AAO01119	(154)	kgmagrpmtiplalgkiayiwfmsi wclapvfgwsryvpegnltscgidy					
P28678	(154)	kgmagrpmtiplalgkiayiwfmsi wclapvfgwsryvpegnltscgid					
AAB31030	(154)	iwclapafgwsryvpegnltscgidylerdwnpresyli fysi fvyiplfl					
P22269	(154)	magqpmtiklaimkialiwfmsi wtlapvfgwsryvpegnltscgidyle					
AAO01095	(154)	grpmtiplalgkiayiwfmsi wclapafgwsryvpegnltscgidylerd					

B.

	154	160	170	180	190	204
AAB87898 (154)	kgmagrpmtiplalqkiayiwfmssiwcclapvfgwaryvpegnltscgidy					
AAO01038 (154)	vivkgmagrpmtiplalqkiayiwfmssiwcclapvfgwaryvpegnltscg					
ninaE (154)	kqmagrpmtiplalqkiayiwfmssiwcclapafgwaryvpegnltscgidy					
AAO01119 (154)	kgmagrpmtiplalqkiayiwfmssiwcclapvfgwaryvpegnltscgidy					
P28678 (154)	kgmagrpmtiplalqkiayiwfmstiwccclapvfgwaryvpegnltscgid					
AAB31030 (154)	iwcclapafgwaryvpegnltscgidylerdwnprsyli fysi fvyypipl fl					
P22269 (154)	magqpmtiklaimkialiwfmasiwtlapvfgwaryvpegnltscgidyle					
AAO01095 (154)	grpmtiplalqkiayiwfmssiwcclapafgwaryvpegnltscgidylerd					
	205	210	220	230	240	255
AAB87898 (205)	lerdwnprsyli fysi fvyypipl flicysywfii aavsah ekamreqakkm					
AAO01038 (205)	idylerdwnprsyli fysi fvyypipl flicysywfii aavsah ekamreqa					
ninaE (205)	lerdwnprsyli fysi fvyypipl flicysywfii aavsah ekamreqakkm					
AAO01119 (205)	lerdwnprsyli fysi fvyypipl flicysywfii aavsah ekamreqakkm					
P28678 (205)	ylerdwnprsyli fysi fvyypipl flicysywfii aavsah ekamreqakk					
AAB31030 (205)	icysywfii aavsah ekamreqakkmnvkslrssedaeksaegklakvalv					
P22269 (205)	rdwnprsyli fysi fvyypipl flicysywfii aavsah ekamreqakkmnv					
AAO01095 (205)	wnprsyli fysi fvyypipl flicysywfii aavsah ekamreqakkmnvks					
	255	270	280	290	306	
AAB87898 (256)	nvkslrssed adksaegklakvalvtislwfmawtpylvincmglfkfegl					
AAO01038 (256)	kkmnvkslrssed adksaegklakvalvtislwfmawtpylvincmglfkf					
ninaE (256)	nvkslrssed adksaegklakvalvtitlwfmawtpylvincmglfkfegl					
AAO01119 (256)	nvkslrssed adksaegklakvalvtislwfmawtpylvincmglfkfegl					
P28678 (256)	mnvkslrssed adksaegklakvalvtislwfmawtpylvincmglfkfeg					
AAB31030 (256)	titlwfmawtpylvincmglfkfegltplntiwgac faksaacynpivygi					
P22269 (256)	kslrssed adksaegklakvalvtislwfmawtpytiintlglfkyegltpl					
AAO01095 (256)	lrssed adksaegklakvalvtitlwfmawtpylvincmglfkfegltpln					
	307	320	330	340	357	
AAB87898 (307)	tplntiwgac faksaacynpivygishpkyrlalkekpcpcvfgkvddgks					
AAO01038 (307)	egltplntiwgac faksaacynpivygishpkyrlalkekpcpcvfgkvdd					
ninaE (307)	tplntiwgac faksaacynpivygishpkyrlalkekpcpcvfgkvddgks					
AAO01119 (307)	tplntiwgac faksaacynpivygishpkyrlalkekpcpcvfgkvddgks					
P28678 (307)	ltpntiwgac faksaacynpivygishpkyrlalkekpcpcvfgkvddgk					
AAB31030 (307)	shpkyrlalkekpc					
P22269 (307)	lntiwgac faksaacynpivygishpkyrialkekpcpcvfgkvddgk asd					
AAO01095 (307)	tiwgac faksaacynpivygishpkyrialkekpcpcvfgkvddgkssdaq					

Fig. 1 不同物種視蛋白 Rh1 胺基酸序列比對情形。(A) 不同視蛋白 Rh1 N 端胺基酸序列比對情形。使用”*genefisher*”分析序列中粉紅色區塊 (156aa) 設計 5’端 Rh1 group 退化引子；(B) 不同視蛋白 Rh1 C 端胺基酸序列比對情形。使用”*genefisher*”分析序列中灰色區塊 (166aa) 設計 3’端 Rh1 group 退化引子。(A)、(B) 圖中右側代號見研究方法 1.4 table 之說明。

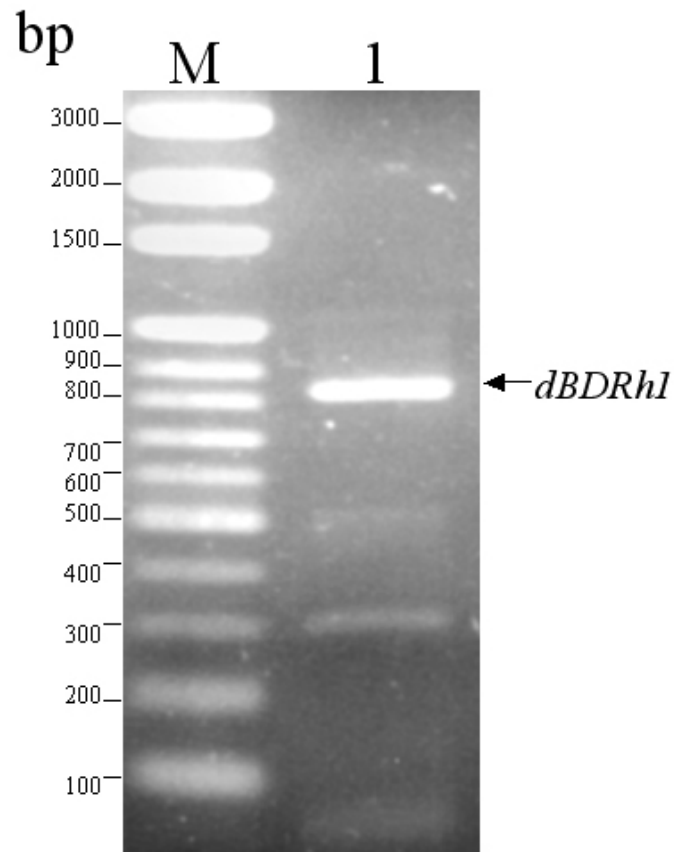


Fig. 2 退化 PCR 產物 DNA 電泳結果照片。Lane 1 為退化 PCR 產物的 DNA 片段，主產物 dBDRh1 長約 840bp，在 300bp、500bp 及 840bp-1000bp 可看見副產物的 band。Lane M 為 DNA marker，用以標示 DNA 片段大小。洋菜膠體濃度 1.5%。

A.

```

                                     BamHI
                                     ~~~~~
1   TTTCAATTCC CGCCTATGGA TCCATTCTG GCGAAAATC
-----
41  CTCACGGCGT ACATGATCTG CATCGGTATG ATTTCATGGT
-----
81  GTGGAAATGG CGTGGTGATT TATATATTCT CAACAACGAA
-----
121 ATCATTACGT ACACCCGCTA ACCTGCTGGT CATCAACTTA
-----
161 GCGCTATCTG ATTTCGG
-----

```

B.

```

281 290 300 310 320 330 340 350
|-----|
5'dBDRh1      TTTCAATTCCCGCTATGGATCCATTCTGGGCGAAATCCTCACGGGTACATGAT
DMninaE      CAGCCCCTACTGGAAACGAGTTCCCGCCATGGACCCATT-TGGGCCAAGATCCTGACCGCTACATGAT
Consensus    .....aacCAaTTCCcCcATGGAcCCcATT.TGGGcCAaATCCTcAcGcTACATGAT

351 360 370 380 390 400 410 420
|-----|
5'dBDRh1      CTGCATCGGTATGATTTcATGGTGTGGAAATGGCGTGGTGATTATATATTCTCACACACGAAATCATTa
DMninaE      CATGATCGGCATGATTTCTGGTGC GGAAATGGCGTGGTGATCTACATATTCGCCACCACCAATCACTG
Consensus    CagcATCGGcATGATTTcATGGTGC GGAAATGGCGTGGTGATcTAcATATTCgCaACaACCAATCAcTa

421 430 440 450 460 470 480 490
|-----|
5'dBDRh1      CGTACACCCGCTAACCTGCTGGTCATCAACCTTAGCGCTATCTGATTTcGG
DMninaE      CGCACGCCCGCTAACCTGCTGGTCATCAACCTGGCCATCTCCGACTTTGGCATCATGATCACAAACACGC
Consensus    CgCaCaCCCGCTAACCTGCTGGTCATCAACCTaGcCaTaTcGAcTTcGG.....

```

Fig. 3 5'dBDRh1 核苷酸序列 (A) 及其和果蠅 ninaE 比對 (B)。(A) 5'dBDRh1 長 177bp, 其上具有 BamH1 切點(GGATCC);(B)DMninaE 代表果蠅 ninaE (GenBank accession number NM_079683) 的 281-490 核苷酸序列, 序列中紅色代表高度保留核苷酸、綠色代表低度保留核苷酸、黑色代表不保留核苷酸, 黑線代表空洞 (gap), consensus 為經與 DMninaE 第 321-470 個核苷酸比對後保留的核苷酸序列, 紅色代表高度保留的核苷酸, 綠色代表低度保留的核苷酸, 黑點: 沒有保留的核苷酸。

A.

```

1  AATGGAATCC ACGATCATAC TTGATATTAA TACTCCATCT
41 TCGTCTACTA CGTGCCGTTA TTCTTGATTT GCTACTCTTA
81 CTGGTTCATC ATTGCTGCTG TATCAGCTCA CGAGAAGGCC
121 ATGCGCGAAC AAGCCAAGAA AATGAATGTC AAATCTCTGC
161 GCTCCTCTGA GGATGCCGAG AAGAGTGCCG AGGGCAAACCT
201 GGCCAAGGTT GCGCTAGTCA CCATACTCAT TGTGGTTCAT
241 GCGGTGGACA CCATACTTGG GTATCAACTG CATGGGCCTG
281 TTCAAGGTCC TAGG

```

B.

	771	780	790	800	810	820	830	840
3'dBDRh1	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
DMninaE	TCGTGCGGTATTGACTACTTGGAAACGCGACATGGAAcCCACGcTCATACcTGATcTTc-TACTCCATcTTc							
ConsensusAaTGGAAcCCACGaTCATAcTGATaTTa.TACTCCATcTTc							
	841	850	860	870	880	890	900	910
3'dBDRh1	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
DMninaE	GTcTACTAcGcTGCCGcTATTcTTGATTTGcTACTcTTACTGcTTcATcATTGcTGcTGTaTCAGcTCAGc							
Consensus	GTcTACTAcATcTCCGcTGTTcTGATcTGcTACTcTTACTGcTTcATcATTGcTGcTGTaTCAGcCCAGc							
	911	920	930	940	950	960	970	980
3'dBDRh1	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
DMninaE	AGAAAGGCCATGCGCGAAcAAGCCAAAGAAaATGAATGTCAaATcTcTGCGcTcCTcTGAGGATGCCGAGAA							
Consensus	AGAAAGGCCATGCGCGAAcAaGCCAAAGAAaATGAATGTCAaATcTcTGCGcTcCTcTGAGGATGCCGAGAA							
	981	990	1000	1010	1020	1030	1040	1050
3'dBDRh1	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
DMninaE	GAGTGCCGAGGGCAaACTGGCCaAGGTGcGcTAGTCACCATAcTcATTGTGGTTcATGGcGTGGAcACC							
Consensus	GAGcGCCGAGGGCAaCTGGCCaAGGTGcGcTAGTCACCATcAcAGcTGTGGTTcATGGcGTGGAcACC							
	1051	1060	1070	1080	1090	1100	1110	1120
3'dBDRh1	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
DMninaE	ATAcTTGGcTATCAAcTGCATGGcCTGTTCaAGcTcTAGG							
Consensus	ATAcTTGGcATCAAcTGCATGGcACTGTTCaAGcTcAGGGcCTTAcCCAcTGAATAcCATTTGGGGa							

Fig. 4 3'dBDRh1 核苷酸序列 (A) 及其和果蠅 *ninaE* 比對 (B)。(A) 3'dBDRh1 長 294bp;(B)DM*ninaE* 代表果蠅 *ninaE*(GenBank accession number NM_079683) 的 771-1120 核苷酸序列，核苷酸序列中紅色代表高度保留核苷酸、綠色代表低度保留核苷酸、黑色代表不保留核苷酸，黑線代表空洞 (gap)，consensus 為經與 DM*ninaE* 第 799-1092 個核苷酸比對後保留的核苷酸序列，紅色代表高度保留的核苷酸，綠色代表低度保留的核苷酸，黑點：沒有保留的核苷酸。

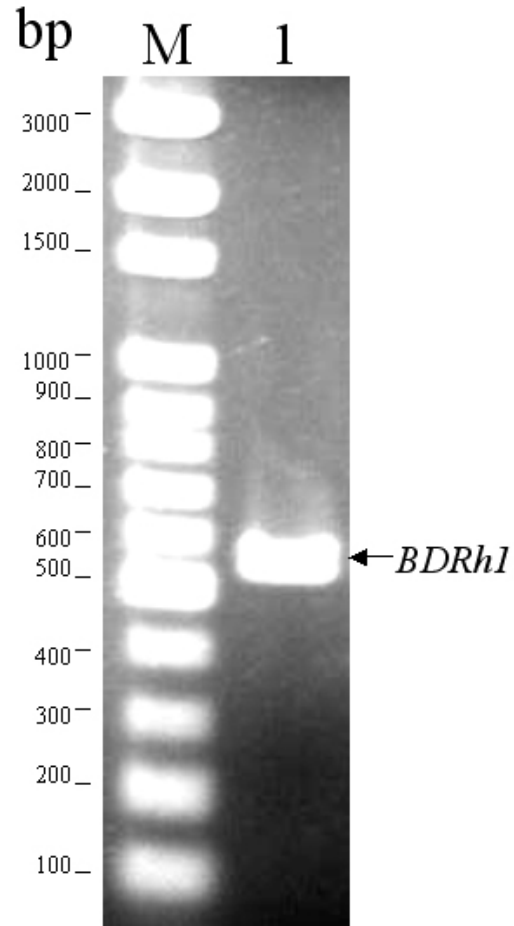


Fig. 5 專一 PCR 產物 BDRh1 DNA 電泳照片。Lane 1 為長約 550bp 專一 PCR 產物 BDRh1 DNA 片段。Lane M 為 DNA marker 用以標示 DNA 片段大小。洋菜膠體濃度 1.5%。

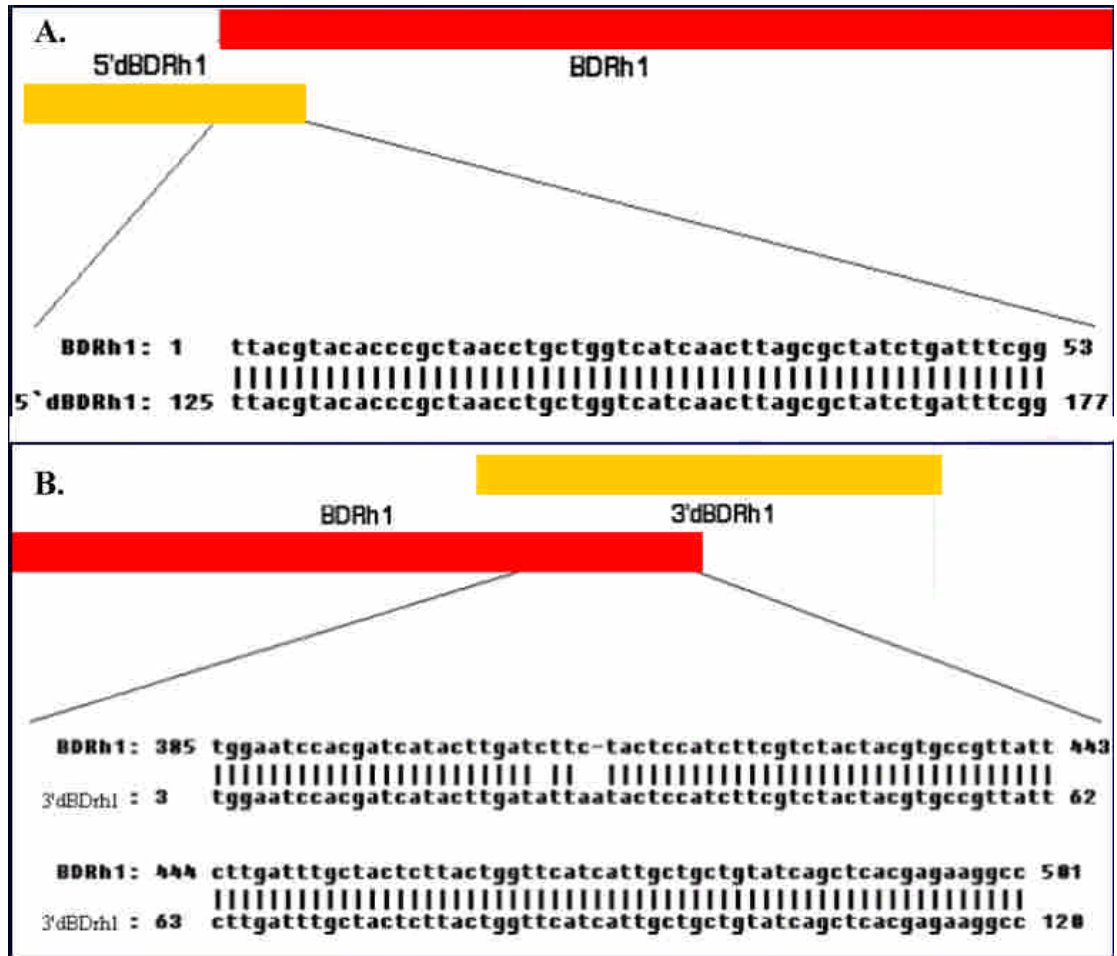


Fig. 6 dBDRh1 和 BDRh1 比對連結過程。(A) 5'dBDRh1 第 125-177 個核苷酸和 BDRh1 核苷酸序列重疊區域。(B) 3'dBDRh1 第 3-120 個核苷酸和 BDRh1 核苷酸序列重疊區域。

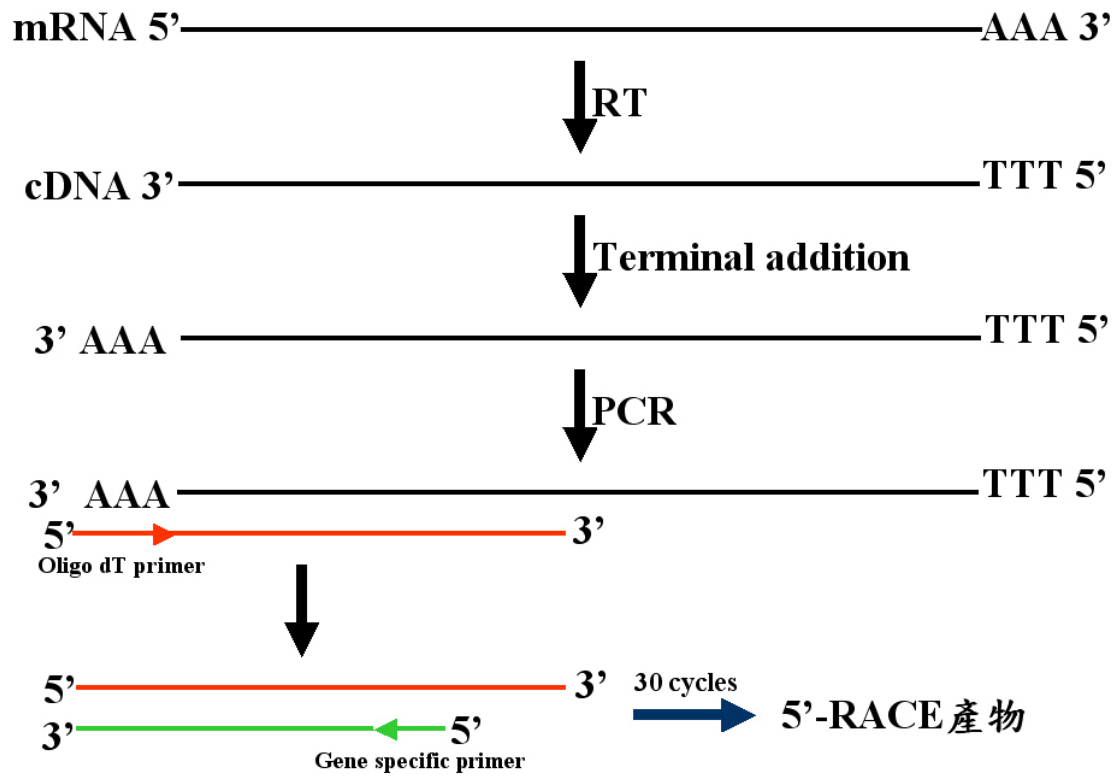
1 TGGGCGAAAA TCCTCACGGC GTACATGATC TGCATCGGTA
41 TGATTTTCATG GTGTGGAAAT GGCCTGGTGA TTTATATATT
81 CTCAACAACG AAATCATTAC GTACACCCGC TAACCTGCTG
121 GTCATCAACT TAGCGCTATC TGATTTCCGT ATAATGATCA
161 CAAATACGCC GATGATGGGT ATCAATTTGT ATTTCGAAAC
201 CTGGGTCTTG GGGCCAGCCA TGTGCGATCT ATATGGTGGT
241 TTGGGTTCGG CCTTTGGTTG CAGTTCCATT TGGTCGATGT
281 GCATGATCTC ACTGGATCGT TATCAAGTCA TTGTCAAGGG
321 TGTAGCGGGA CGACCAATGA CGATTAAGTT GCGCCTGATG
361 AAAATCGCCT TCATCTGGGC AATGGGCAGC ATTTGGACAT
401 TGGCGCCAGT CTTCCGCTGG AGCAGGTATG TGCCTGAGGG
441 CAATTTGACA TCTTGCGGTA TTGATTACTT GGAGCGCGAC
481 TGGAAATCCAC GATCATACTT GATCTTCTAC TCCATCTTCG
521 TCTACTACGT GCCGTTATTC TTGATTTGCT ACTCTTACTG
561 GTTCATCATT GCTGCTGTAT CAGCTCACGA GAAGGCCATG
601 CGCGAACAAG CCAAGAAAAT GAATGTCAA TCTCTGCGCT
641 CCTCTGAGGA TGCCGAGAAG AGTGCCGAGG GCAAACCTGGC
681 CAAGGTTGCG CTAGTCACCA TA

Fig. 7 BDRh1ps 核苷酸序列 (702bp)。

	281	290	300	310	320	330	340	350
	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
BDRh1ps						TGGGC	GA	AATCCTCACGGCGTACATGATC
DMninaE	CAGCCC	GTACTG	GAACCA	GTTC	CCCCGC	CAAT	TGGGC	CAAGATCCTGACCGCTACATGATC
Consensus	TGGGC	CAAAATCCTCACeGCcTACATGATC
	351	360	370	380	390	400	410	420
	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
BDRh1ps	TGCAT	CGGTAT	GATTTCA	TGGTGT	GGAATG	GCGTGG	TGATT	TATATATTC
DMninaE	ATGAT	CGGCAT	GATTTCT	TGGTGC	GGAATG	GCGTGG	TGATCTA	CATATTCG
Consensus	agc	ATCGGc	ATGATTTCa	TGGTGC	GGAATG	GCGTGG	TGATcTA	CATATTCgCaACaACcAAATCAcTaC
	421	430	440	450	460	470	480	490
	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
BDRh1ps	GTAC	ACCCGCT	AACCTG	CTGGT	CATCA	ACTTAG	CGCTAT	CTGATTC
DMninaE	GCAC	CCCCGCT	AACCTG	CTGGT	CATCA	ACTTAG	CGCTAT	CTGATTC
Consensus	GeAC	aCCCGCT	AACCTG	CTGGT	CATCA	AcTaGC	caTaTC	cGAcTTcGGcATaATGATCACAAAcACGCC
	491	500	510	520	530	540	550	560
	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
BDRh1ps	GATG	ATGGG	TATCA	ATTG	TATTC	GAACTG	GGTCTT	GGGCG
DMninaE	CATG	ATGGG	CATAA	CTGT	ATTC	GAGAC	CTGGT	GCTCGG
Consensus	c	ATGATGGGc	ATAAATc	TGTATTC	GAAc	ACTGGGT	ccTcGG	aCCaaccATGTGCGAcaTATAcGccGGa
	561	570	580	590	600	610	620	630
	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
BDRh1ps	TGGG	TTCCG	CTTTG	GTG	CGTTC	CCATTT	GGTGC	ATGTGC
DMninaE	CTGG	CTCCG	CTTTG	GTG	CGTTC	CCATTT	GGTGC	ATGTGC
Consensus	cTGGGc	TCGGCCTTTGGc	TGCAGc	TCCATc	TGGTCC	ATGTGC	ATGATCTC	cCTGGATCGcTACCAGTGA
	631	640	650	660	670	680	690	700
	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
BDRh1ps	TTGT	CAAGGG	TGTAG	CGGG	ACGAC	CAATG	ACGATT	AGTTGG
DMninaE	TCGT	CAAGGG	CATGGC	CGCCG	CCGATG	ACCATT	CCGCTGG	CCCTGG
Consensus	TcGT	CAAGGGc	aTaGCc	GGaCGa	CCaATGAc	ATTaaGc	TGGCc	CTGagcAAaATcGCCTaCATCTGGgc
	701	710	720	730	740	750	760	770
	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
BDRh1ps	AATGGG	CAGC	ATTGG	ACATT	TGGCG	CCAGT	CTTC	CGGTGG
DMninaE	CATGT	CGAGC	ATTGG	TGCCT	TGGCG	CCCGC	CTTC	CGGTGG
Consensus	a	ATGg	ccAGCATT	TGGacac	TGGCGCCa	GcCTTC	CGGTGG	AGcAGGTATGTGCCgGAGGGcAAccTGACa
	771	780	790	800	810	820	830	840
	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
BDRh1ps	TCTT	GCGGT	ATTG	ATTG	AGCG	AGCTG	GAAAT	CCACG
DMninaE	TCG	TGCGGT	ATTG	ACTT	TGGA	AGCG	AGCTG	AAATCC
Consensus	TCg	TGCGGT	ATTGAc	TACTT	TGGAa	AGCGAG	CTGAAc	CCACGATCATAcTGATCTTCTACTCCATCTTCG
	841	850	860	870	880	890	900	910
	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
BDRh1ps	TCTA	CTAC	GTGCC	GTATT	CTTG	ATTG	TGCT	ACTCTT
DMninaE	TGTA	CTATA	TTCG	CTGT	TTC	CTGAT	CTGCT	ACTCTT
Consensus	Tc	TACTA	caTg	CCGc	TaTTC	cTGATc	TGCTACT	CTTACTGGTTCATCATTGCTGCTGTaTCaGCcCACGA
	911	920	930	940	950	960	970	980
	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
BDRh1ps	GAAG	GCATG	CGCGA	ACAG	CCAG	AAATG	AATGT	CAATCT
DMninaE	GAAG	GCATG	CGCGA	ACAG	CCAG	AAATG	AATGT	CAATCT
Consensus	GAAG	GCATG	CGCGA	ACAG	CCAG	AAATG	AATGT	CAATCTcCGCTCCTCTGAGGATGCCGAGAG
	981	990	1000	1010	1020	1030	1040	1050
	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----							
BDRh1ps	AGT	GCCG	AGGG	CAACT	TGGC	CAAG	GTTC	GCTAG
DMninaE	AGC	GCCG	AGGG	CAAG	CTGGC	CAAG	GTTC	GCTAG
Consensus	AGc	GCCG	AGGG	CAAc	CTGGC	CAAG	GTTC	GCTAGTcACCATa.....

Fig. 8 BDRh1ps 和果蠅 *ninaE* 核苷酸序列比對。BDRh1ps 來自 Fig. 7、DM*ninaE* 代表果蠅 *ninaE* (GenBank accession number NM_079683) 第 281-1050 個核苷酸序列，核苷酸序列中紅色代表高度保留核苷酸、綠色代表低度保留核苷酸、黑色代表不保留核苷酸，consensus 為經與 DM*ninaE* 第 321-1022 個核苷酸比對後保留的核苷酸序列，紅色代表高度保留的核苷酸，綠色代表低度保留的核苷酸，黑點：沒有保留的核苷酸。

A.



B.

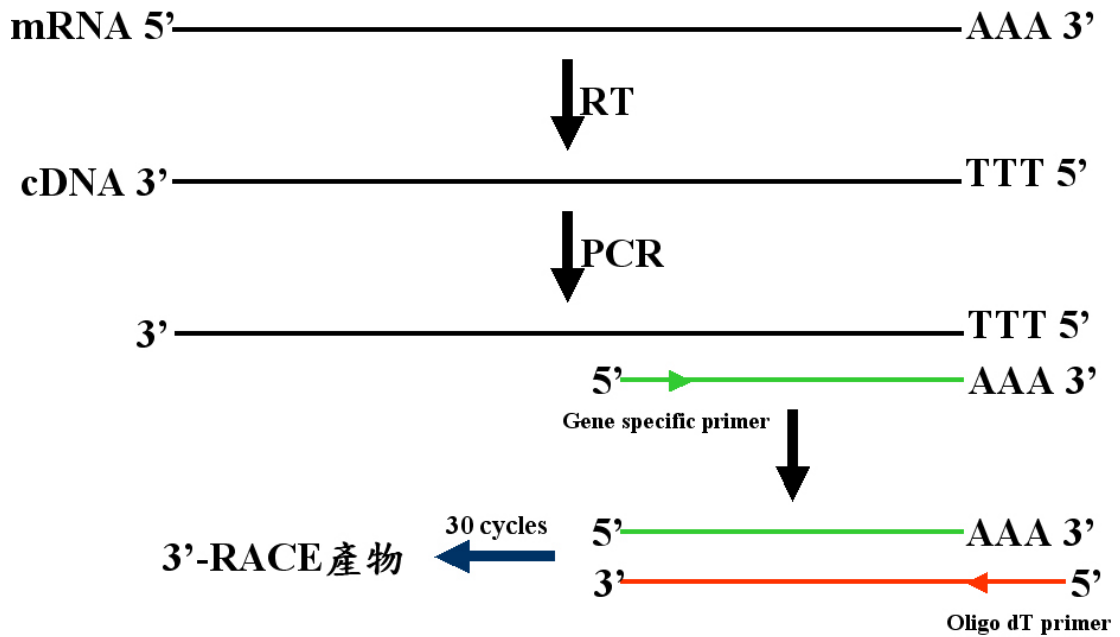


Fig. 9 5'-RACE RT-PCR 簡化步驟圖 (A)、3'-RACE RT-PCR 簡化
步驟圖 (B)。圖中紅色箭代表引子 oligo dT primer：

AAGCAGTGGTATCAACGCAGATTTTTTTTTTTTTTTTTTTT，綠色箭
代表 gene specific primer，在圖 (A) 為 CCGAACCCAAACCACCAT，
在 (B) 為引子 CGCGAACAAGCCAAGAAA；紅線代表起點為 oligo
dT primer 生成的 cDNA 片段；綠線代表起點為 gene specific primer
生成的 cDNA 片段。

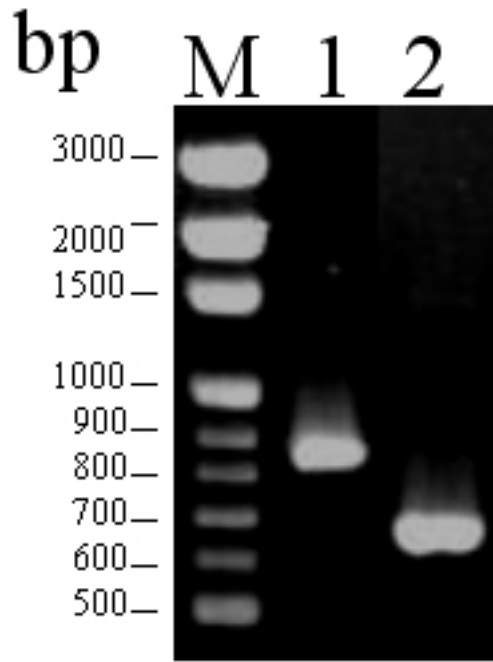


Fig. 10 3'-RACE、5'-RACE colony PCR DNA 電泳照片。Lane 1 為 3'-RACE DNA 片段（約 850bp）。Lane 2 為 5'-RACE DNA 片段（約 670bp）。Lane M 為 DNA marker 用以標示 DNA 片段大小。洋菜膠體濃度 1.5%。

A.

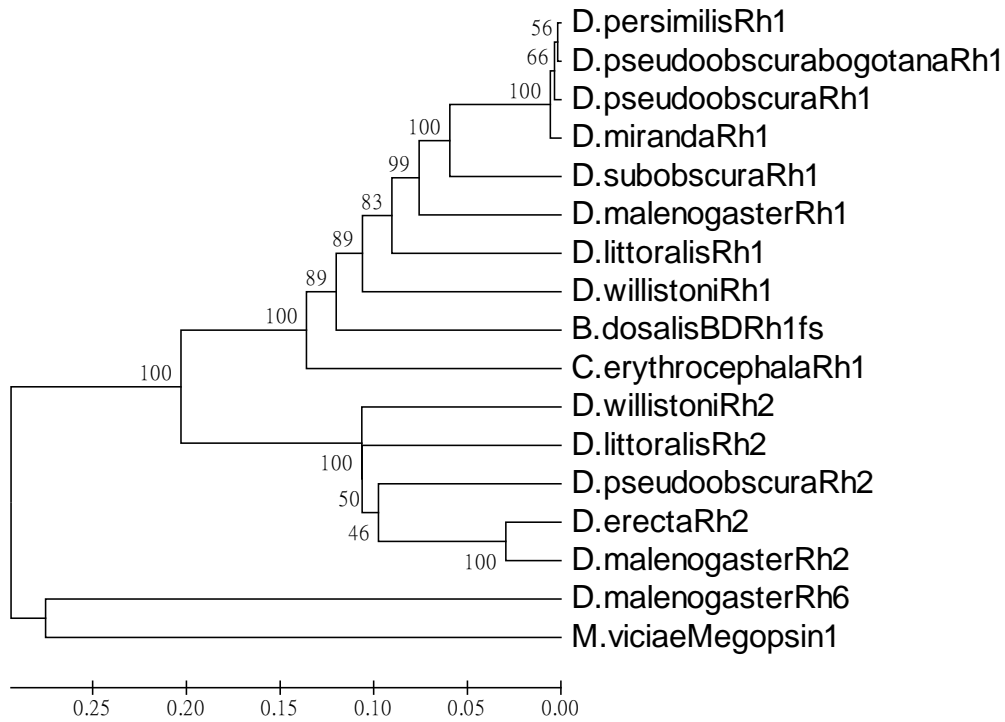
1 CGAACAGTCCACTCCGGGAAT TATCCCAAAAAATAACAAAAA AAACTTTACTTTGAAAGAAAT GAGATTTAATCTTTAATTTGC
 85 ATCTTTTTTGAACGTAATAA AATTTAAAAAATCAAAAAACG GTCTTTCGGCACGAAAGCACT TAAAGGCTTATAGACCAATAC
 Met Asp Ser Leu Gln Ser Leu Gly Pro His Phe Ala Ala Leu Ser Asn Gly Ser Val Thr
 169 CCACCGAACAAACAACAACTCA ATAATGGATAGTTTACAATCC TTGGGGCCACACTTTGCCGCG CTGTCCAATGGGTCAGTCACA
 Asp Lys Val Thr Pro Asp Met Ala His Leu Ile His Pro Tyr Trp Asn Gln Phe Pro Ala Met Asp Pro Ile Trp Ala Lys Ile
 253 GACAAGGTCACGCCGATATG GCGCACTTAATTCACCCGTAC TGGAAATCAATTCCCAGCTATG GATCCCATCTGGGCGAAAAATC
 Leu Thr Ala Tyr Met Ile Cys Ile Gly Met Ile Ser Trp Cys Gly Asn Gly Val Val Ile Tyr Ile Phe Ser Thr Thr Lys Ser
 337 CTCACGGCGTACATGATCTGC ATCGGTATGATTTTCATGGTGT GGAAAATGGCGTGGTATTAT ATATTCTCAACAACGAAATCA
 Leu Arg Thr Pro Ala Asn Leu Leu Val Ile Asn Leu Ala Leu Ser Asp Phe Gly Ile Met Ile Thr Asn Thr Pro Met Met Gly
 421 TTACGTACACCCGCTAACCTG CTGGTCATCAACTTAGCGCTA TCTGATTCGGGTATAATGATC ACAAATACGCCGATGATGGGT
 Ile Asn Leu Tyr Phe Glu Thr Trp Val Leu Gly Pro Ala Met Cys Asp Leu Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Ala Phe Gly Cys Ser
 505 ATCAATTTGTATTTCGAAACC TGGGTCTTGGGGCCAGCCATG TGCATCTATATGGTGGTTTG GGTTCGGCCCTTGGTTGCAGT
 Ser Ile Trp Ser Met Cys Met Ile Ser Leu Asp Arg Tyr Gln Val Ile Val Lys Gly Val Ala Gly Arg Pro Met Thr Ile Lys
 589 TCCATTTGGTCGATGTGCATG ATCTCACTGGATCGTTATCAA GTCATTGTCAAGGGGTAGCG GGACGACCAATGACGATTAAG
 Leu Ala Leu Met Lys Ile Ala Phe Ile Trp Ala Met Gly Ser Ile Trp Thr Leu Ala Pro Val Phe Gly Trp Ser Arg Tyr Val
 673 TTGGCGCTGATGAAAATCGCC TTCATCTGGCAATGGGCAGC ATTTGGACATTGGCGCCAGTC TTCGGCTGGAGCAGGTATGTG
 Pro Glu Gly Asn Leu Thr Ser Cys Gly Ile Asp Tyr Leu Glu Arg Asp Trp Asn Pro Arg Ser Tyr Leu Ile Phe Tyr Ser Ile
 757 CCTGAGGGCAATTTGACATCT TCGGTTATTGATTACTTGGAG CGCGACTGGAATCCACGATCA TACTTGATCTTCTACTCCATC
 Phe Val Tyr Tyr Val Pro Leu Phe Leu Ile Cys Tyr Ser Tyr Trp Phe Ile Ile Ala Ala Val Ser Ala His Glu Lys Ala Met
 841 TTCGTCTACTACGTGCCGTTA TTCTTGATTGCTACTCTTAC TGGTTCATCATTGCTGCTGTA TCAGCTCACGAGAAAGGCCATG
 Arg Glu Gln Ala Lys Lys Met Asn Val Lys Ser Leu Arg Ser Ser Glu Asp Ala Glu Lys Ser Ala Glu Gly Lys Leu Ala Lys
 925 CGCGAACAAAGCCAAAGAAAATG AATGTCAAATCTCTGCGCTCC TCTGAGGATGCCGAGAAAGAGT GCCGAGGGCAAACCTGGCCAAG
 Val Ala Leu Val Thr Ile Ser Leu Trp Phe Met Ala Trp Thr Pro Tyr Leu Val Ile Asn Cys Met Gly Leu Phe Lys Phe Glu
 1009 GTTGCCTAGTCACCATCTCA TTGTGGTTCATGGCGTGGACA CCATACTTGGTGATCAACTGC ATGGGCTGTTC AAGTTCGAG
 Gly Leu Thr Pro Leu Asn Thr Ile Trp Gly Ala Cys Phe Ala Lys Ser Ala Ala Cys Tyr Asn Pro Ile Val Tyr Gly Ile Ser
 1093 GGATTGACACCACCTGAATACC ATCTGGGGAGCTTGCTTCGCC AAATCGGCCGCTTGCTACAAT CCCATTGTCTACGGTATCAGC
 His Pro Lys Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Glu Lys Cys Pro Cys Cys Val Phe Gly Lys Val Asp Asp Gly Lys Ser Ser Asp Ala
 1177 CATCCCAAATACCGTTTGGCA TTGAAAGAGAAATGCCATGC TGTGTGTTCCGGCAAGGTCGAT GATGGCAAGTCCAGCGACGGC
 Gln Ser Gln Ala Thr Thr Asn Glu Ser Glu Ser Lys Ala***
 1261 CAATCACAGGCCACTACCAAC GAATCGGAGTCCAAGGCATAA ATTCTCCGACATGTGCCAGCC GTTAGCGATGCAATGACAGCA
 1345 ACAAAATACGATAAAAAATAACA ACAACAGCAACAAAATTAGTG AGGCATTCCGAGCGAATGCA ATATTAGCAGCAACAACAACA
 1429 ACAACAACAAATGACAACAGTT ATGGAACAGCTAGCAGCAAC ATAACGCAGAGATTCAATTGT TTTATAAGAGAGAGCGAATTT
 1513 ATAAGAATGAAATGTTTTATG AGTATAATTATTGACATAGAT AAATATATAAAACATAAAGTG CAACGTCATCAAAGACTT

B.

MDSLQSLGPHFAALS**N¹⁶**GSVTDKVT**ED**PDMAHLIHPYWNQFPAMDPIW **TM1**A
KILTAYMICIGMISWCGNGVVIYI **TM1** FSTTKSLRTPAN **CL1** LLVINLALSDFGI **TM2**
MITNTPMMGINLY **TM2** FETWVLGPAM**C¹¹⁹**DLY**Y¹²²**GGLGSAFGC **TM3** SSIWSMCMISL
DRY**QVIVKGV**AGRPM **EL1** TIKL ALMKIAFIWAMGSIWTLAPVFGWS **TM4** RYVP **EL2**
EGN¹⁹²**LTSC¹⁹⁶**GIDYLERDWNPRS **EL2** YLIFYSIFVYYVPLFLICYSYWFIAAV **TM5** SA **CL3**
HEKAMRE**QAKKMNV**KSLRSEDAEKSAEGKLA **CL3** KVALVTISLWFMA **TM6**
WTPYLVINCMGL **TM6** FKFEGLT **EL3** PLNTIWGACFA **TM7** K³¹⁵SAACYNPIVYGIS **CD** HPKY
RLALKEK**CPCC**VFGKVDDGKSSDAQSQATTN³⁶³ **CD** EESKA

Fig. 11 BDRh1fs 核苷酸序列、轉譯的胺基酸序列 (A) 及預測的視蛋白二級結構、功能相關保留區 (B)。(A) BDRh1fs 核苷酸序列長 1593bp，蛋白則由 369 個胺基酸組成，啟動密碼為第 193-195 個核苷酸，蛋白質轉譯到第 1302-1304 個核苷酸時停止。(B) 胺基酸上標數值表示其為第幾個胺基酸，如：N¹⁶ 表示 N 為第 16 個胺基酸，非黑色胺基酸依預測功能分類：藍色 N¹⁶、N¹⁹²、N³⁶³ 為糖基化位點，黃色 C¹¹⁹、C¹⁹⁶ 可形成雙硫鍵鍵結，青色 Y¹²² 為無脊椎動物藍綠色光偏好視蛋白保留胺基酸，紅色 DRY、HEK、QAKKMNV 為 G 蛋白連結處，綠色 K³¹⁵ 可和色基經 Schiff base 形成視紫質，紫色 C CC 棕櫚酸化後可嵌入細胞膜中形成第四個胞內環(329-339aa)。ED: extracellular domain, TM: transmembrane region, CL: cytoplasmic loop, EL: extracellular loop, and CD: cytoplasmic domain.

A.



B.

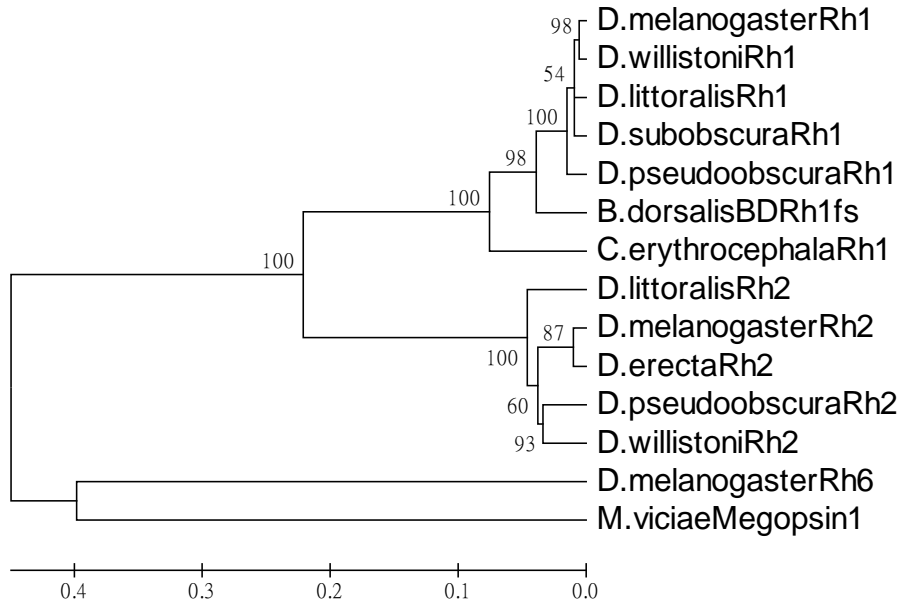
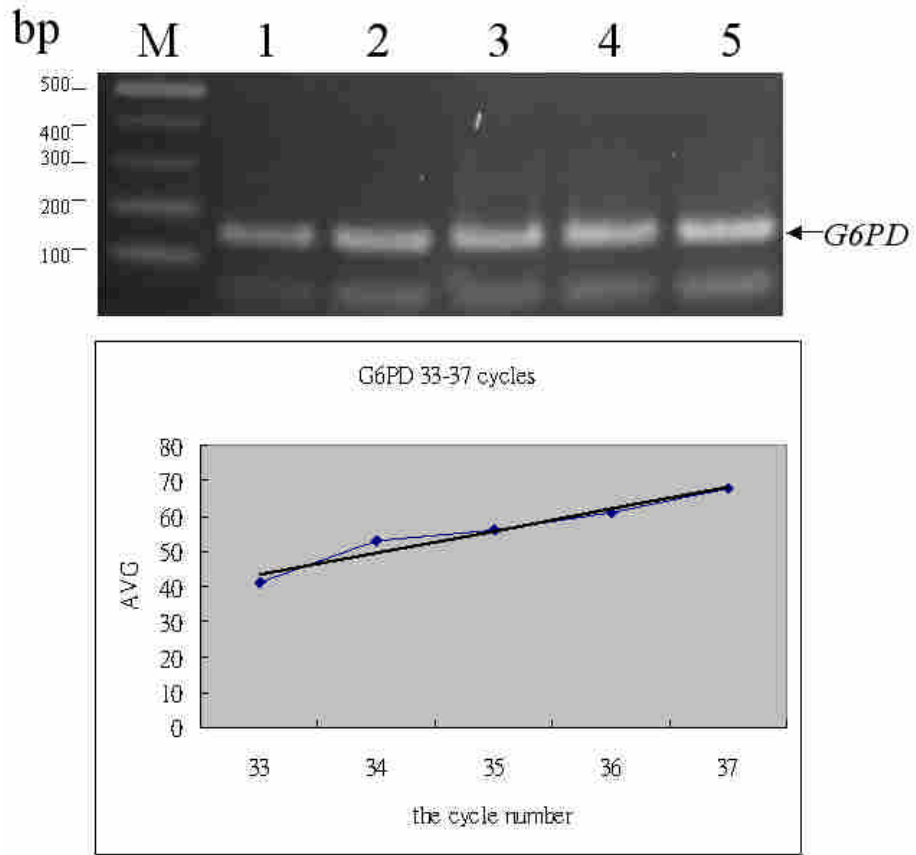


Fig. 12 依照 Opsin RH1/RH2 家族核苷酸序列及胺基酸序列所繪製的親緣關係樹。(A) 核苷酸序列的親緣關係樹狀圖，係用 MEGA 2.0 軟體，選擇 neighbor joining 方式 Tamura-Nei 模式繪製。100 的 bootstrap 值支持分成三群：Rh1 分支群、Rh2 分支群、Rh6 和 Megopsin1 分支群，100 的 bootstrap 值支持 BdoRh1 和果蠅屬視蛋白在同一個分支群，而和紅頭麗蠅 Rh1 分開，故 BdoRh1 基因屬於 Rh1 分支群。(B) 胺基酸序列的親緣關係樹狀圖，係用 MEGA 2.0 軟體，選擇 neighbor joining 方式 Gamma distance 模式繪製。100 的 bootstrap 值支持分成三群：Rh1 分支群、Rh2 分支群、Rh6 和 Megopsin1 分支群，100 的 bootstrap 值支持 BdoRh1 和果蠅屬視蛋白在同一個分支群而和紅頭麗蠅 Rh1 分開，故 BdoRh1 屬於 Rh1 分支群。圖中各物種相關 DNA 片段核苷酸序列 (A) 和蛋白質胺基酸序列 (B) 之註冊號碼見實驗 1.17 步驟 (8)。

A.



B.

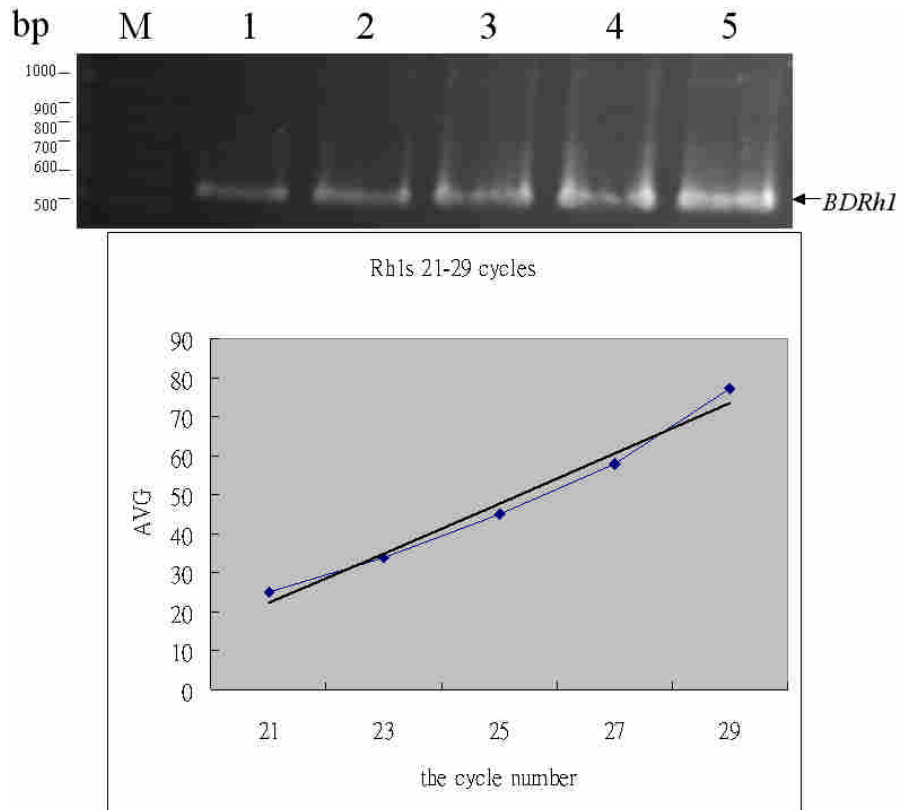


Fig. 13 內控制組 G6PD PCR (A) 及 Rh1 group 專一 PCR (B) 不同循環次數 (cycle number) 的 DNA 電泳照片 (上圖) 及”在不同 PCR 循環次數下 DNA band 亮度曲線圖” (下圖)。(A) 上圖, Lane 1-5 分別代表以 33-37 次循環的內控制組 G6PD PCR 的 DNA 片段, 產物長 151bp; (B) 上圖, Lane 1-5 分別代表以 21-29 次循環的 Rh1 group 專一 PCR 的 DNA 片段, 產物長約 550bp。Lane M 為 DNA marker, 用以標示 DNA 片段大小。洋菜膠體濃度 1.5%。下圖為”在不同 PCR 循環次數下 DNA band 亮度曲線圖”, 縱座標 AVG 為單位面積下 band 的亮度, 橫座標 the cycle number 表示 PCR 的循環次數; 在測試的循環次數範圍, 內控制組 G6PD (A) 及 BDRh1 (B) 的 PCR 產物量隨循環次數的增加而線性增加。

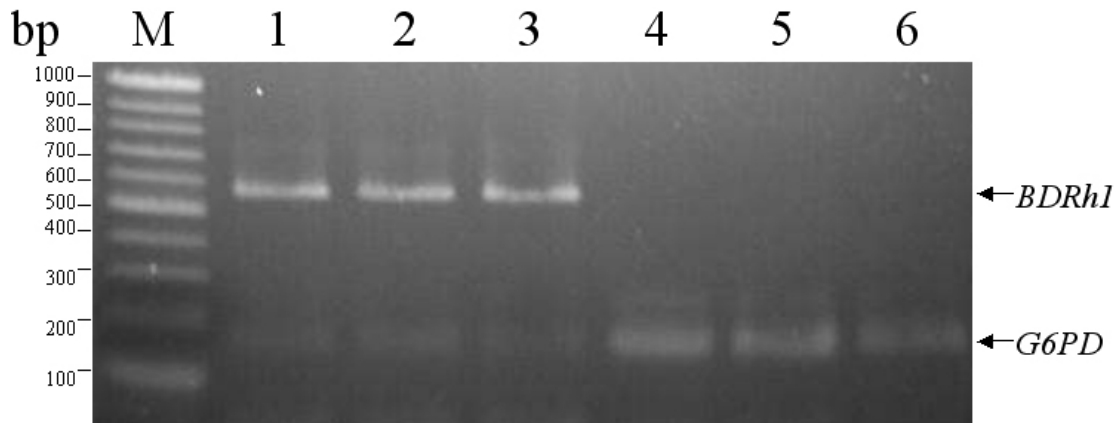
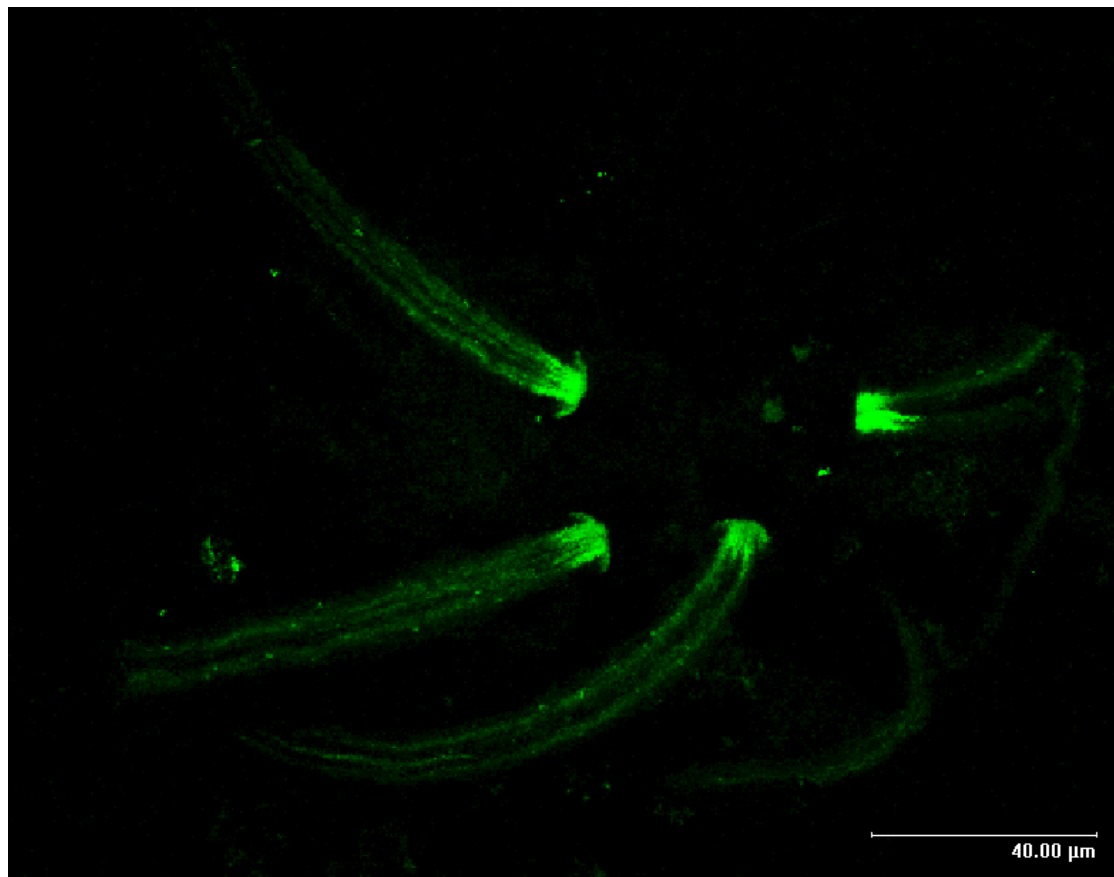


Fig. 14 三隻雌蟲複眼視覺相關細胞及其身體其他部分之 Rh1 group 專一 PCR 的 DNA 電泳照片。Lane 1 為第一隻雌蟲複眼視覺相關細胞的 Rh1 group 專一 PCR 的產物 (約 550bp) 和內控制組 G6PD PCR 的產物 (151bp) 共同 loading 的 DNA 片段，第二隻及第三隻的結果在 Lane 2、3；Lane 4 為第一隻雌蟲身體其他部分的 Rh1 group 專一 PCR 的產物和內控制組 G6PD PCR 的產物共同 loading 的 DNA 片段，第二隻及第三隻的結果在 Lane 5、6；Lane M 為 DNA marker，用以標示 DNA 片段大小；洋菜膠體濃度 1.5%。結果顯示 BdoRh1 主要表現在複眼視覺相關細胞，而身體其他部分則幾乎不表現。

A.



B.

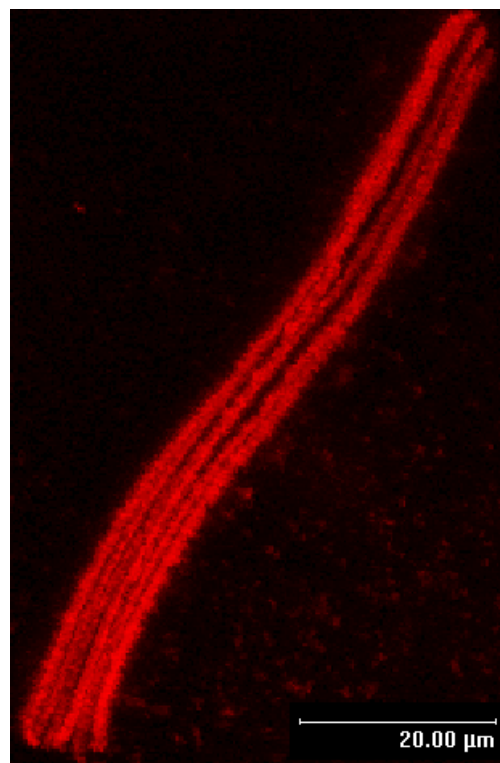


Fig. 15 東方果實蠅複眼視細胞免疫化學染色結果。(A) phalloidin 和 F-actin 連接，呈現了從小眼遠端啟始延伸整個桿小體微絨毛的構造；(B) Rh1 專一抗體後接二級抗體呈色結果，桿小體微絨毛呈現紅色，依此推論 BdoRh1 位於外圍 6 個光感受器細胞。

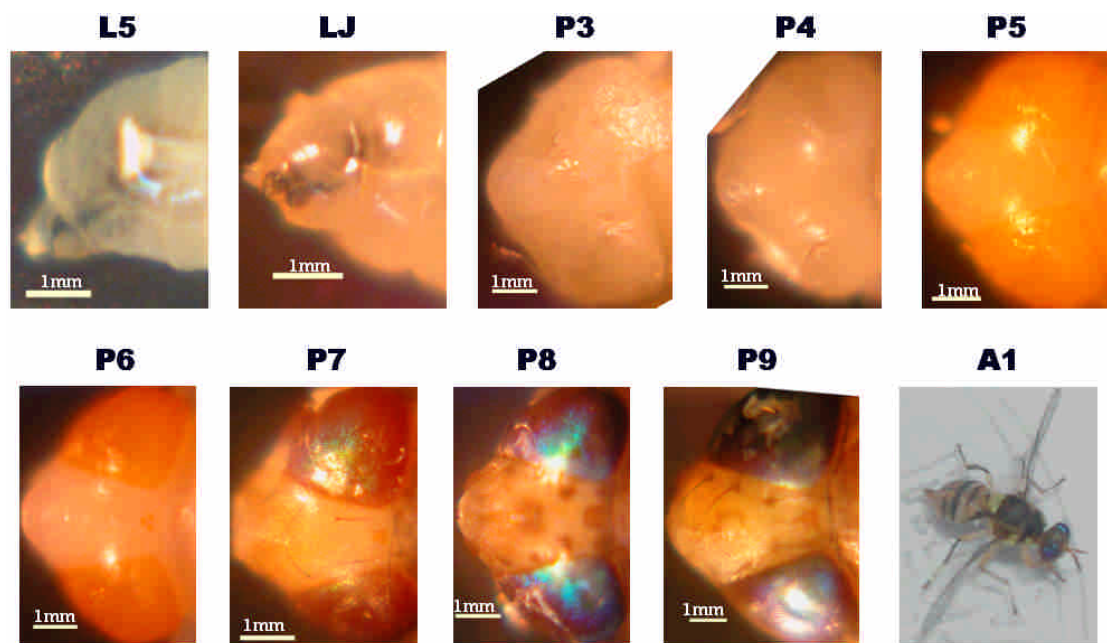


Fig. 16 不同發育時期的東方果實蠅複眼發生情形。L5：幼蟲期5天、LJ：找尋化蛹處的老熟幼蟲、P3-P9：蛹期3天到9天、A1：剛羽化的雌蟲。幼蟲期無複眼，複眼在P3、P4期時，外形漸趨完整；P5期複眼呈黃色；P6期變橘黃色；P7期呈橘紅色；P8-P9期複眼像成蟲時一般散射綠藍紅各色光線。

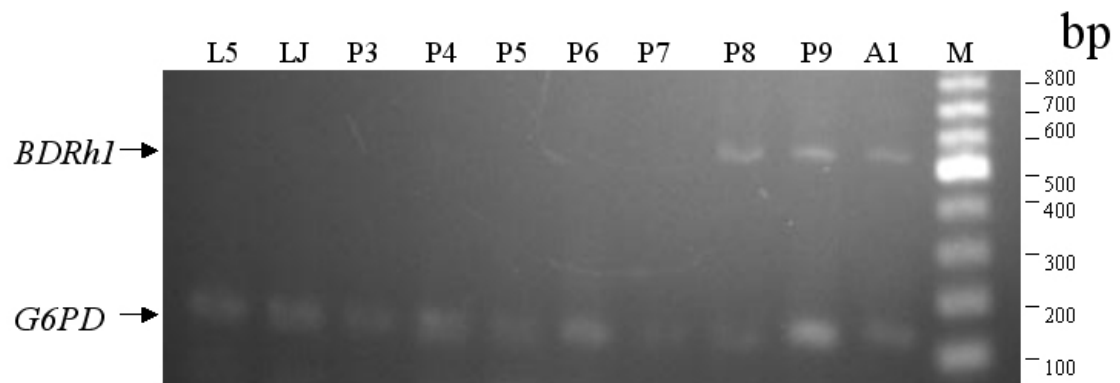


Fig. 17 不同發育時期的東方果實蠅 Rh1 group 專一 PCR 產物和內控制組 G6PD PCR 產物的 DNA 電泳照片。Rh1 group 專一 PCR 產物約 550bp 和內控制組 G6PD PCR 產物 151bp DNA 片段。L5-A1 期請見 Fig. 16 之圖說。Lane M 為 DNA marker 用以標示 DNA 片段大小；洋菜膠體濃度 1.5%。BdoRh1 在 L5-P7 期都沒有表現，直到 P8 期才開始大量表現，這與果蠅視蛋白的表現情形相似-都是在蛹期發育末期才開始表現。