

# 台灣土雞卵白蛋白基因啟動子之選殖與 DNA 序列分析<sup>(1)</sup>

劉振發<sup>(2)(6)</sup> 王佩華<sup>(3)</sup> 蔡麗卿<sup>(2)</sup> 王君今<sup>(2)</sup> 林正鏞<sup>(4)</sup>  
戴謙<sup>(5)</sup> 陳立人<sup>(2)(5)(6)</sup> 蕭振文<sup>(2)(7)</sup>

收件日期：98年4月23日；接受日期：98年8月20日

## 摘要

本研究在選殖台灣土雞 (Taiwan native chicken) 之卵白蛋白 (ovalbumin) 基因的啟動子，構築入載體中，供家禽基因轉殖之用途。試驗採集台灣土雞之血液樣品並應用套組純化基因組 DNA。選殖卵白蛋白之引子係參考網路資料庫中雞卵白蛋白基因序列而設計，之後進行聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 及電泳，將特異之 PCR 產物回收純化供進行 DNA 序列分析。試驗結果顯示，進行 PCR 後獲得 5.4 kb 之特異片段產物，該片段包括了啟動子上游區之動情素-反應增強區 (estrogen-responsive enhancer element, ERE)，其功能為調控卵白蛋白基因之表現效率。此外，為了提供將來測試比較不同啟動子調控區長度對表現效率的影響，也分別擴增出長度為 2.8 kb 及 675 bp 的部分卵白蛋白基因啟動子序列，供進一步次選殖之用。這些特異之 PCR 產物以膠體回收套組回收，選殖入 TOPO 載體進行 T-A cloning，經過 DNA 序列分析與 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) 比對，結果與 NCBI 基因庫中編號 V00382.1 (*Gallus gallus* gene for ovalbumin) 及 V00438.1 (Chicken ovalbumin gene) 序列具有最高之相似性，確定為雞之卵白蛋白基因啟動子序列。本試驗選殖的台灣土雞卵白蛋白基因啟動子序列，具有發展為基因轉殖研究用特異啟動子來源。

關鍵詞：台灣土雞、卵白蛋白基因、啟動子。

---

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 1528 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所生理組。

(3) 國立台灣大學動物科技系。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所花蓮種畜繁殖場。

(5) 南台科技大學。

(6) 國立成功大學生物科技研究所。

(7) 通訊作者，E-mail: jwshian@mail.tlri.gov.tw。

## 緒言

雞的卵白蛋白 (ovalbumin) 是由生殖道中輸卵管細胞所分泌之主要蛋白質之一，卵白蛋白的表現受到賀爾蒙及高度組織特異性基因表現之調控 (Dillner and Sanders, 2000; Muramatsu and Sanders, 1995)。雞的卵白蛋白基因位於第二套染色體上的巨染色體上 (macrochromosomes) 上，其上游調控區域長達 7 kb，DNA 組成之鳥嘌呤去氧核苷 (guanine, G)-胞嘧啶去氧核苷 (cytosine, C) 含量高達 42% (Morshed *et al.*, 2006)。

應用家禽做為生物反應器的研究，近期較重要的發展是英國羅斯林研究所 Lillico *et al.* (2007) 等利用基因轉殖技術，將卵白蛋白基因的啟動子，構築到慢病毒載體 (lentiviral vectors)，調節 miR24 與 hIFN  $\beta$  1a 兩種醫療用蛋白質在雞之卵管中表現。其中 miR24 係源自小鼠的單株抗體，經改造成為 humanized ScFv-Fc miniantibody，已證明可供治療惡性黑色素瘤 (malignant melanoma)；而 hIFN  $\beta$  1a 是人類干擾素  $\beta$  1a (human interferon  $\beta$  1a)。在進行基因轉殖試驗後成功產製基因轉殖雞，外源基因能順利傳遞到 G1 代，並可從這些基因轉殖雞所產的雞蛋中萃取具有生物活性的 miR24 和 hIFN  $\beta$  1a 兩種醫療用蛋白質。此研究證實卵白蛋白基因的啟動子具有組織表現特異性，能夠調節蛋白質在卵管中表現，利用慢病毒載體進行基因轉殖，可以成功將外源基因順利傳遞。

近年來，畜產試驗所已建立家禽胚的關鍵操作技術，包括：雞胚胎體外培養系統的建立、利用生殖細胞或早期胚盤內胚葉細胞轉置，進行產製具有性腺嵌合之家禽。由於家禽的始生殖細胞 (primordial germ cells, PGCs) 會藉由胚胎的血液循環或主動離開血管移行到生殖脊。因此，若在 PGCs 移行途中或徑自生殖脊中取出再移置入另一胚胎中，也可獲得性腺嵌合家禽，提高家禽基因轉殖可行性。若將外源基因導入其中再進行移置，可獲得性腺嵌合基因轉殖家禽，做為生物反應器 (bioreactor)，供產製高價值藥用蛋白質。為了在基因轉殖家禽的特定器官或組織表現外源蛋白質，有必要選殖特異啟動子。故本研究選殖台灣土雞的卵白蛋白基因啟動子，構築入 DNA 序列分析載體中，供家禽基因轉殖研究之用。

## 材料與方法

### I. 台灣土雞卵白蛋白基因之啟動子序列選殖

- (i) 台灣土雞血液之收集與基因組 DNA 萃取：自台灣土雞的翼下採集全血，置入已添加抗凝血劑之離心管，再利用 DNA 純化套組 (Qiagen, GmbH) 並依照其操作步驟進行基因組 DNA 之萃取、純化與定量。
- (ii) 選殖卵白蛋白基因啟動子序列之引子設計：參考 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 資料庫中，有關卵白蛋白基因啟動子的序列，設計引子並進行聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)，以便複製出長 5.4 kb 之卵白蛋白基因啟動子序列區域。引子序列為 sense primer：5'-CTGCAGAAAAATGCCAGGTGG-3'，antisense primer：5'-GCCCCGGGTGAACTCTGAGTTGTCTAG-3'。此外，也分別設計引子，以便複製出長 2.8 kb 及 675 bp 的特異片段，俾供後續選殖之後用；其中 2.8 kb 供選殖卵白蛋白基因啟動子序列區 sense primer 之引子為：5'-CTTAAGTCCTCAGACTTGGC-3'，antisense primer：5'-GCCCCGGGTGAACTCTGAGTTGTCTAG-3'。而 675 bp 卵白蛋白基因啟動子下游之動情素-反應增強區的引子為 sense primer：5'-CTGCAGAAAAATGCCAGGTGG-3'，

antisense primer : 5'-TCTAGAGAGAGTAAGCAACAATCTTCT-3'。

- (iii) PCR 及電泳：使用萃取自台灣土雞之基因組 DNA 做為模板進行 PCR。PCR 反應液含有 10  $\mu$ M 的 sense 與 anti-sense 引子各 1  $\mu$ L, *Taq* DNA 聚合酶 (Roche, Germany) 0.5  $\mu$ L (5 U/ $\mu$ L), 10 $\times$  PCR buffer 3  $\mu$ L, 2.5 mM dNTP 0.6  $\mu$ L 及 2dH<sub>2</sub>O 22.9  $\mu$ L, PCR 反應總體積為 30  $\mu$ L。PCR 條件為 denaturation 94°C 2 min, 10 次循環的 94°C 15 sec, 60°C 30 sec 與 72°C 2 min。接著為 20 次循環的 94°C 15 sec, 60°C 30 sec 與 72°C 2 min, 最後為 72°C 5 min extension。反應後維持於 4°C, 並於完成 PCR 後取 10  $\mu$ L 產物並加入 2  $\mu$ L 的 6 $\times$  Loading buffer, 置入 1% 瓊脂醣膠片內, 於 0.5 $\times$ 之 Tris-acetate-EDTA (TAE) 緩衝液中進行電泳, 條件為 100 Volt 30 min。電泳後將膠片置入染液 [0.5 $\times$  的 TAE 內含 0.1  $\mu$ g/mL 的溴化乙錠 (ethidium bromide)] 中染色, 並於紫外燈箱上觀察並紀錄結果。
- (iv) DNA 片段回收與選殖：將長度為 5.4 kb 的 PCR 產物自膠體切下, 利用回收套組 (Qiagen, GmbH) 並依據其方法回收 DNA 片段。回收之 DNA 片段利用 TOPO XL PCR cloning kit (Invitrogen, USA), 將 PCR 產物 T-A cloning 選殖入 TOPO 載體內的多選殖位置 (multiple cloning site, MCS), 再轉型入勝任細胞 (competent cells) *E. coli* 內, 增殖後, 萃取出重組質體 DNA, 供分析接入片段核苷酸序列之用。
- (v) DNA 序列分析與比對：選殖之 PCR 產物利用 DNA 序列分析儀 (ABI 3730, Applied Biosystems Inc., CA) 並依其方法進行 DNA 之序列分析。序列分析乃應用 TOPO 載體上之 M13F 及 M13R 之引子序列進行。完成 DNA 序列分析的資料利用 Vector NTI (Infor Max Inc., USA) 連接到 NCBI 進行 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) 比對, 以了解選殖序列的正確性與比較網路資料庫中的相似序列。

## 結果與討論

本研究在選殖台灣土雞之卵白蛋白基因的啟動子序列, 構築入序列分析載體經確認後, 供未來雞隻基因轉殖之用途。試驗結果顯示, PCR 後獲得特異的 5.4 kb 片段產物 (圖 1-A); 該片段包括上游調控卵白蛋白基因表現的動情素-反應增強區 (estrogen-responsive enhancer element, ERE) 至轉錄起始位置。此外, 本試驗也分別擴增出長度為 2.8 kb (圖 1-B) 及 675 bp (圖 1-C) 的部分卵白蛋白基因啟動子序列, 可供進一步次選殖之用。該將長度為 675 bp 之 PCR 產物, 已知係動情素-反應增強區直接連接卵白蛋白基因之轉錄起始點往上游的 2.8 kb 啟動子序列, 可以有效且組織專一性的驅動基因在輸卵管之管狀腺細胞 (tubular gland cells) 表現 (Muramatsu and Sanders, 1995)。這些特異之 PCR 產物以膠體回收套組回收, 選殖入 TOPO 載體進行 T-A cloning, 此等特異 PCR 產物以膠體回收套組純化回收, 選殖入 TOPO 載體中進行 T-A cloning, 經過 DNA 序列分析 (圖 2 及 3 分別為 5' 端與 3' 端之部分序列分析結果), 與 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) 比對 (圖 4), 結果與 NCBI 基因庫中編號 V00382.1 (*Gallus gallus* gene for ovalbumin) 及 V00438.1 (Chicken ovalbumin gene) 序列具有最高之相似性, 確定為雞之卵白蛋白基因啟動子序列。



```

Query 13 AACGTTTTGC-AATGTGAAATGCAAGACTGGAATTAACAGATATTAATAATATAGTAGTG 71
          |||||
Sbjct 3192 AACGTTTTGCAAATGTGAAATGCAAGACTGGAATTAACAGATATTAATAATATAGTAGTG 3133

Query 72 TAAAAAGCTATTTTACACTGTATTACTACATGCTATGCCTTATAGTGTATTTAGTAGTGT 131
          |||||
Sbjct 3132 TAAAAAGCTATTTTACACTGTATTACTACATGCTATGCCTTATAGTGTATTTAGTAGTGT 3073

Query 132 AATATGAAATAGCTGTATGGTAAGATTTGACATTCTTTAGCAAGCCATTTCATTCTCTGA 191
          |||||
Sbjct 3072 AATATGAAATAGCTGTATAGTAAGATTTGACATTCTTTAGCAAGCCATTTCATTCTCTGA 3013

Query 192 AGACTGTAGAGTTTCAGGTCGGTGATAGAGAAATGTTATTTGTCCTCTCTTCATTTGTA 251
          |||||
Sbjct 3012 AGACTGTAGAGTTTCAGGTCGGTGATAGAGAAATGTTATTTGTCCTCTCTTCATTTGTA 2953

```

圖 3. 選殖之 5.4 kb 台灣土雞卵白蛋白基因啟動子3' 部分 DNA 序列進行 BLAST 比對。

Fig. 3. BLAST alignment of partial DNA sequences on the 3' of a 5.4 kb PCR product amplified from genomic DNA of Taiwan native chicken with ovalbumin gene promoter cloning primers.

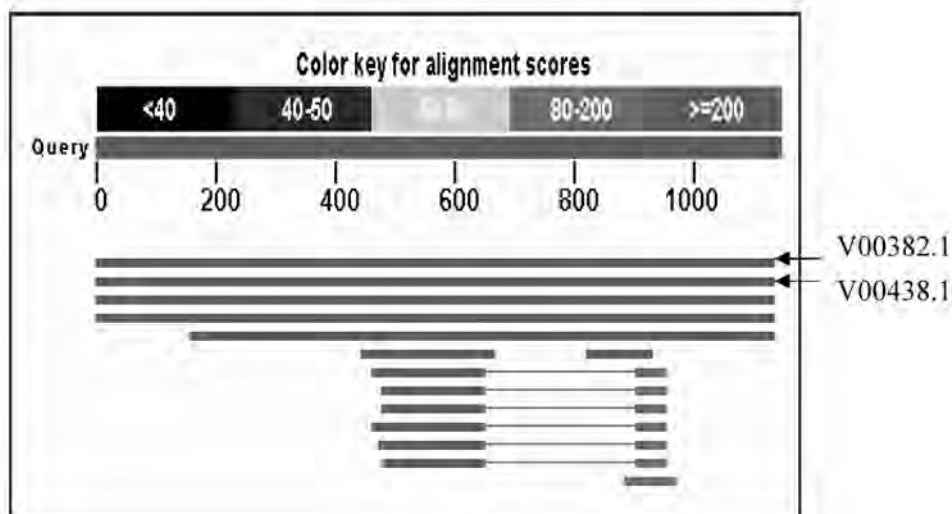


圖 4. 選殖之台灣土雞卵白蛋白基因啟動子部分 DNA 序列進行 BLAST 比對。結果與基因庫編號 V00382.1 (*Gallus gallus* gene for ovalbumin) 及 V00438.1 (Chicken ovalbumin gene) 序列具有最高相似性。

Fig. 4. BLAST alignment of cloned ovalbumin gene promoter region DNA sequences of Taiwan native chicken have the highest similarity with the V00382.1 (*Gallus gallus* gene for ovalbumin) and the V00438.1 (Chicken ovalbumin gene).



目前蛋白質藥物之生產，大多藉由體外培養哺乳動物細胞例如中國倉鼠卵細胞（Chinese Hamster Ovary cells, CHO cells）、細菌例如大腸桿菌（*Escherichia coli*, *E. coli*）、或酵母菌（*Saccharomyces cerevisiae*）等方式而為之。此等生產方式之操作、原料、專業人力與品質控制等成本相當高，生產線的設立耗費較長（Dyck *et al.*, 2003）。鑑於成本及生產效率之考量，目前研究多半著重在如何藉由基因轉殖動物做為生物反應器（bioreactors），供生產醫療用蛋白質。近年來，利用哺乳動物作為藥用蛋白生物反應器之相關研究雖已成功，然而卻面臨哺乳動物世代間距過長、乳汁中重組蛋白之純化不易等問題（Hunter *et al.*, 2005）。相較於家畜，若能以家禽做為基因轉殖的對象，其具有包括世代間距短、繁殖力強、飼養成本低、禽蛋中蛋白質含量高且純化容易等之相對優勢；另一方面，某些對哺乳類細胞有毒性而不適合以哺乳類來產製的特殊蛋白質，則可利用基因轉殖家禽來進行生產的優點（Rapp *et al.*, 2003; Kamihira *et al.*, 2005; Lillico *et al.*, 2007）。

要利用基因轉殖動物做為生物反應器來生產醫療用蛋白，宜選擇具有組織特異性的啟動子，讓外源重組蛋白（recombinant protein）能夠在特定組織表現，以利重組蛋白之回收純化，故應用哺乳動物做為生物工廠，乳腺組織將是優先選擇的標的組織。而家禽的基因轉殖，因蛋含有豐富蛋白質而成為表現外源重組蛋白的理想標的。雞蛋中卵白蛋白是構成蛋白部分的主成份，約佔蛋白部分的一半以上，禽類在產蛋過程中，生殖道中僅蛋白分泌部的管狀腺細胞（tubular gland cells）能表現並分泌卵白蛋白，成為雞蛋之主要蛋白組成。而選殖一個具有組織表現特異性的啟動子，是開發基因轉殖動物做為生物反應器之技術平台過程中相當重要之一環。

近年來，在家禽的基因轉殖研究已有成功之例，McGrew *et al.*（2004）以慢病毒載體（lentiviral vectors）為媒介注入新鮮受精蛋（stage X）的胚盤內，成功產製帶有增強螢光蛋白質（enhance green fluorescent protein, eGFP）及 $\beta$ 半乳糖苷酶（*LacZ*）兩種報導基因之基因轉殖雞，其 G0 代到 G1 代外源基因的性腺傳承率為 4 – 45 %，這些外源基因能穩定傳遞到 G2 代，證實慢病毒載體轉染是有效產製基因轉殖家禽的方法。而 Lillico *et al.*（2007）將選殖自卵管的卵白蛋白基因啟動子構築到慢病毒載體內，藉以調控醫療用蛋白質在卵管中表現並分泌到雞蛋之蛋白中，成功產製基因轉殖雞，並將外源基因順利傳遞到 G2 代，更順利從這些基因轉殖雞生產的雞蛋中純化出 miR24 和 hIFN  $\beta$  1a 兩種醫療用蛋白質。Scott and Lois（2005）利用慢病毒載體成功產製具有組織表現特異性的基因轉殖鵝。此外，Koo（2006）應用鼠科白血病-反轉錄病毒（Moloney murine leukemia virus, MoMLV）載體系統成功產製一個高效率表現 eGFP 之基因轉殖雞品系。在性腺傳承後保留了 eGFP 基因，且表現水準高達 100  $\mu$ g/1 mg 之組織蛋白質。經 DNA 序列分析，顯示外源基因穩定插入第一代與第二代基因轉殖雞之第 26 號染色體。Kwon *et al.*（2008）亦利用 MoMLV 載體，注射於 stage X 之雞胚中，成功產製帶有人類顆粒細胞刺激因子（recombinant human granulocyte colony stimulating factor, rh G-CSF）重組蛋白並證實可以性腺傳承到後代，這些基因轉殖雞表現之 rhG-CSF 其生物活性顯著高於利用大腸桿菌生產之商業化產品。

在家禽基因轉殖技術之發展上，除了直接將慢病毒載體注入新鮮受精蛋的胚盤內而成功產製基因轉殖家禽外；也有利用 PGCs 為媒介來進行雞之基因轉殖的方式（Naito *et al.*, 2007；van de Lavoie *et al.*, 2006），然而，卻僅能在胚胎階段偵測到外源 eGFP 的表現，迄今尚未能成功產出基因轉殖雞個體。儘管如此，以始基生殖細胞為媒介產製基因轉殖雞仍是很有潛力之途徑之一，利用 PGCs 的移植，已成功產出性腺嵌合的後代（van de Lavoie *et al.*, 2006）。

目前，雖有成功產製基因轉殖雞的報告發表（McGrew *et al.*, 2004；Koo *et al.*, 2006；Lillico *et al.*, 2007；Kwon *et al.*, 2008），在技術上仍有改善之空間。這些研究多數是利用反轉錄病毒為媒介，把外源基因成功轉染到胚胎並順利傳遞到下一代。在諸多基因轉殖的方法中，精子載體法之操作最為容易，惟至今均無法有效將外源基因嵌入染色體中，外源基因只能短暫表現而無法傳遞到下一代。因此，若利用反轉錄病毒為媒介，將外源基因轉染到精細胞或許可以提昇外源基因有效嵌入

染色體之效率，使外源基因穩定傳承並表現。

利用基因轉殖動物為生物反應器來做為醫療用蛋白生產的技術平台，是科學界極力想達成的目標。然而，如何讓基因轉殖動物能長時間且穩定的表現外源基因，則是畜禽基因轉殖技術平台能否順利步入商業化應用之重要關鍵。

相較於應用基因轉殖哺乳動物所面臨的世代間距過長、乳汁中重組蛋白純化等困難，讓母雞能夠將高濃度之複雜人類藥用蛋白質分泌於雞蛋的蛋白中，除了可以縮短世代間距，降低生產成本並提升產量，藥用蛋白質之抽取純化將更為簡易（Kwon *et al.*, 2008）。因此，隨著禽類基因轉殖技術的發展，使利用母雞為生物工廠來大量生產醫療用蛋白之可行性增加。本試驗選殖的台灣土雞卵白蛋白基因啟動子序列，具有發展成基因轉殖雞研究用之特異性啟動子，供進行後續基因轉殖雞研究之用。

## 參考文獻

- Dillner, N. B. and M. M. Sanders. 2000. Hormone response units: the ovalbumin model. In recent research developments in molecular and cellular biology. Vol. 1, ed. Pandalai, S. G. Kerala, pp. 93-108.
- Dyck, M. K., D. Lacroix, F. Pothier and M. A. Sirard. 2003. Making recombinant proteins in animals--different systems, different applications. Trends Biotechnol. 21:394-399.
- Hunter, C.V., L. S. Tiley and H. M Sang. 2005. Developments in transgenic technology: applications for medicine. Trends Mol. Med. 11:293-298.
- Kamihira, M., K. Ono, K. Esaka, K. Nishijima, R. Kigaku, H. Komatsu, T. Yamashita, K. Kyogoku and S. Iijima. 2005. High-level expression of single-chain Fv-Fc fusion protein in serum and egg white of genetically manipulated chickens by using a retroviral vector. J. Virol. 79:10864-10874.
- Koo, B. C., M. S. Kwon, B. R. Choi, J. H. Kim, S. K. Cho, S. H. Sohn, E. J. Cho, H. T. Lee, W. Chang, I. Jeon, J. K. Park, J. B. Park and T. Kim. 2006. Production of germline transgenic chickens expressing enhanced green fluorescent protein using a MoMLVbased retrovirus vector. FASEB J. 20:2251-2260.
- Kwon, M. S., B. C. Koo, B. R. Choi, Y. Y. Park, Y. M. Lee, H. S. Suh, Y. S. Park, H. T. Lee, J. H. Kim, J. Y. Roh, N. H. Kim and T. Kim. 2008. Generation of transgenic chickens that produce bioactive human granulocyte-colony stimulating factor. Mol. Reprod. Dev. 75:1120-1126.
- Lillico, S. G., A. Sherman, M. J. McGrew, C. D. Robertson, J. Smith, C. Haslam, P. Barnard, P. A. Radcliffe, K. A. Mitrophanous, E. A. Elliot and H. M. Sang. 2007. Oviduct-specific expression of two therapeutic proteins in transgenic hens. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 104:1771-1776.
- McGrew, M. J., A. Sherman, F. M. Ellard, S. G. Lillico, H. J. Gilhooley, A. J. Kingsman, K. A. Mitrophanous and H. Sang. 2004. Efficient production of germline transgenic chickens using lentiviral vectors. EMBO J. 5:728-733.
- Morshed, M., S. Sano, D. Nishimiya, M. Ando, K. Nishijima and S. Iijima. 2006. Chicken ovalbumin promoter is demethylated upon expression in the regions specifically involved in estrogen-responsiveness. Biosci. Biotechnol. Biochem. 70:1438-1446.
- Muramatsu, T. and M. M. Sanders. 1995. Regulation of ovalbumin gene expression. Poult. Avian. Biol. Rev. 6: 107-112.
- Naito, M., T. Minematsu, T. Harumi and T. Kuwana. 2007. Testicular and ovarian gonocytes from 20-day incubated chicken embryos contribute to germline lineage after transfer into bloodstream of recipient

- embryos. *Reproduction* 134:577-784.
- Rapp, J.C., A. J. Harvey, G. L. Speksnijder, W. Hu and R. Ivarie. 2003. Biologically active human interferon alpha-2b produced in the egg white of transgenic hens. *Transgenic Res.* 12:569-575.
- Scott, B. B. and C. Lois. 2005. Generation of tissue-specific transgenic birds with lentiviral vectors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102:16443-16447.
- van de Lavoie, M., J. H. Diamond, P. A. Leighton, C. Mather-Love, B. S. Heyer, R. Bradshaw, A. Kerchner, L. T. Hooi, T. M. Gessaro, S. E. Swanberg, M. E. Delany and R. J. Etches. 2006. Germline transmission of genetically modified primordial germ cells. *Nature* 441: 766-769.



# Cloning and sequencing of ovalbumin gene promoter sequences from Taiwan native chickens <sup>(1)</sup>

Jenn-Fa Liou<sup>(2)(6)</sup>   Pei-Hwa Wang<sup>(3)</sup>   Lee-Ching Tsai<sup>(2)</sup>  
Chun-Chin Wang<sup>(2)</sup>   Cheng-Yong Lin<sup>(4)</sup>   Chein Tai<sup>(5)</sup>  
Lih-Ren Chen<sup>(2)(5)(6)</sup>   and   Jen-Wen Shiau<sup>(2)(7)</sup>

Received : Apr. 23, 2009 ; Accepted : Aug. 20, 2009

## Abstract

The objective of this study was to clone and sequence the ovalbumin gene promoter from Taiwan native chickens. The genomic DNA from chicken blood was purified and used as templates for polymerase chain reaction (PCR) with ovalbumin gene promoter-specific primers. After PCR, amplification specific DNA fragments of 5.4 kb, 2.8 kb and 675 bp PCR products were obtained. After gel purification and subcloning into the TOPO vector, DNA sequencing and basic local alignment search tool (BLAST) were performed for comparison. These results indicated that the sequence of cloned Taiwan native chicken ovalbumin promoter had the highest similarity to the V00382.1 (*Gallus gallus* gene for ovalbumin) and the V00438.1 (Chicken ovalbumin gene) sequence in GenBank. The ovalbumin gene promoter sequences cloned in this study could be used as an important promoter in the researches of transgenic chicken for the production of human pharmaceutical proteins.

Key words : Taiwan native chicken, Ovalbumin gene, Promoter.

---

(1) Contribution No. 1528 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Physiology Division, COA-LRI, Hsinhua, Tainan 712, Taiwan, R.O.C.

(3) Department of Animal Science and Technology, National Taiwan University, Taipei 106, Taiwan, R.O.C.

(4) Hualien Animal Propagation Station, COA-LRI, Hualien, Taiwan, R.O.C.

(5) Southern Taiwan University, Tainan 712, Taiwan, R.O.C.

(6) Institution of Biotechnology, National Cheng Kung university, Tainan 701, Taiwan, R.O.C.

(7) Corresponding author, E-mail: jwshian@mail.tlri.gov.tw

