



財團法人 食品工業發展研究所

第 63 期

# 生物資源保存及研究簡訊 第18卷第3期

中華民國94年10月發行

補助單位：經濟部技術處 / 執行單位：財團法人食品工業發展研究所

## 本期內容

### 中心新聞 1

- ◎ 2005年第三屆台灣生技月擴大生技產業之國際視野

### 研發專欄 2

- ◎ 微生物資源保存鑑定近十年成果豐碩

### 知識專欄 5

- ◎ 高鏈黴菌之遺傳學發展

### 專利微生物 12

- ◎ 審定公告之專利寄存生物材料



▲ 2005年台灣生技月(Bio Taiwan2005)今年7月在台北舉行，本所生資中心的展覽會場以豐富多元的顯微世界為主題，吸引參觀廠商駐足觀賞，並由研究人員負責相關業務之說明。

(圖：食品所羅瑞娟小姐提供)

## 2005年第三屆台灣生技月 擴大生技產業之國際視野 食品所生資中心展出豐沛生物資源及多元化技術應用成果

生技界盛事—2005年台灣生技月(Bio Taiwan2005)今年7月在台北舉行，7月19日「APEC 生技政策研討會(APEC Biotechnology Conference 2005)」與7月20至21日「亞洲生技商機高峰論壇(BioBusinessAsia2005)」的兩場國際生技研討會率先為台灣生技月系列活動揭開序幕，會中邀請到來自澳、泰、紐、韓、美、港、台等地的專家學者，特別針對「建構亞洲生技產業價值鏈」議題及所面對的挑戰與因應策略進行討論。22至25日為第六屆台灣國際生物科技大展，參展廠商包括食品生技、醫學美容、生技材料、環保、醫療醫藥、生技服務及製藥設備等公司，另有台北、高雄、台南等縣市政府與中興、陽明等大學之育成中心，食品所、工研院、動物所等研發機構及農委會、衛生署等政府相關部會，完整涵括生技產業之上中下游及產官學研各界。本所「生物資源保存及研究中心」多年來提供生技產業豐沛之生物資源，本次生技展即以「豐富多元的顯微世界」參展，展現微生物絢麗的樣態與多元應用成果，包括形象區及乳酸菌、放線菌、醋酸菌、酵母菌、水生真菌及細胞冷凍管封膜機等六大主題。形象區介紹松材線蟲的天敵—松材線蟲捕捉菌*Esteyella vermicola*，本所自新種研究到開發產業應用以防治松樹萎凋病已進行多年努力，防治成果並已獲我國及美國、歐盟、韓國、中國等國專利，是生物資源開發應用的最佳證明。此外並由資深研究員李福臨博士與研究員賴進此博士於7月24日分別就「傳統發酵食品現代化技術」、「加值型酵母菌產品之開發」於大會進行重要研發成果發表。

(文：生資中心 李士瑛)

# 微生物資源保存鑑定 近十年成果豐碩

生資中心

李福臨 資深研究員／劉桂郁 研究員

## I. 名列世界十大的生物資源保存中心

在倡導生物多樣性的現代社會裡，生物資源是極為重要的環境資產，生態系的存活仰賴各式各樣的微生物、植物以及動物的交互作用。人類善用環境資源，研究地球上的所有生物，在了解我們生存空間上的所有生物之餘，更提供我們更多的知識去保護這個美麗的地球。生物資源保存及研究中心 (BCRC, Bioresource Collection and Research Center) 前身為菌種保存及研究中心 (CCRC, Culture Collection and Research Center)，是國內第一大的保存中心，致力於各類生物資源的收集、分離、保存與鑑定研究，目前保存的細菌、放線菌、酵母菌、絲狀真菌、菇類以及細胞資源超過一萬二千株以上，年銷售4,000批次以上生物資源供國內外的業界及學術界進行試驗、研究與開發。

### 1. 保存技術複雜多樣

環境中微生物的種類極多，在研究上因種類而有不同的技術來進行分離及保存。在保存方式上，多數實驗室因設備及技術受限，僅使用繼代培養、

4°C冷藏以及-20°C保存。在這樣的保存方式之下，菌種仍會持續緩慢生長及代謝，經由長時間保存後，菌種的活性以及遺傳特性可能會發生改變，讓菌種難以長期保存，造成珍貴研究成果的流失。

除了上述常見的繼代以及4°C、-20°C短期保存方式之外，還有很多的方式可以進行菌種的保存，像是矽膠保存、礦物油保存、無菌水保存、液體乾燥、冷凍乾燥以及液態氮保存…等保存的方法。在這些保存方式之中，冷凍乾燥法 (Freeze-dring) 與液態氮 (Liquid nitrogen) 低溫保存法是目前公認最佳的長期保存的技術。

### 2. 冷凍乾燥保存法

冷凍乾燥保存法在操作中會使菌體受到冷凍以及乾燥的傷害，常會造成菌數大約減少十倍到千倍，在保存上需要有耐受性強的孢子或菌體、高濃度的初始菌體、選擇適當的保護劑、適度的進行冷凍及乾燥的流程，因此在操作人員方面則需要純熟的技術及經驗來達成最佳的保存效果。一般細菌、放線菌、酵母菌以及產孢的真菌皆可使用冷凍乾燥保存法來進行長期保存，而且保存後的菌株運送方便，是其他保存方

式所不能取代的。

### 3. 液態氮保存法

液態氮保存法也是在冷凍及解凍的過程中會造成菌體的傷害，因此也同樣的需要選擇適當的保護劑、注意降溫的速度、保存的環境及設備，此外在解凍的時候也要減少冰晶的產生，防止菌體在解凍的過程中受損。保存完成後菌體需要儲存在液態氮之中，不可常溫直接運送，因此不如冷凍乾燥管那樣方便。然而細胞株以及不產孢的真菌，因為不能使用冷凍乾燥的方式保存，因此液態氮保存是最佳的方式。

在保存的時候要注意菌株的特性、實驗室的設備以及研究需要，進而選擇適當的保存方式，在一般的可產孢的菌株皆可使用冷凍乾燥法。但是在不產孢的菌株、菇類以及一些特殊菌株，如突變菌株、轉型株等，則較適合使用液態氮保存法。液態氮保存法可以保有菌株的特性，使其冷凍後活化的菌株仍然保有原始菌株的活性，因此雖然在維持上較冷凍乾燥管麻煩，但其冷凍後之存活生物體數量大於冷凍乾燥保存者，是更好的保存方式，只是維持費用較高，是其短處。

### 4. 保存菌種品質最佳

生物資源保存及研究中心在生物資源的保存上投注許多的心力與人力，維持良好的菌種品質，目前中心採用的保存方式是雙重管之冷凍乾燥管保存、-80°C冷凍保存以及液態氮冷凍保存方法。在大多數菌種的保存上皆能得到最佳的存活率，並且可以維持其初始的特性。對於不易保存的菌種，本中心也不斷的進行研究及試驗，探討最佳的保存方式與保存條件，期望可以提供各界更

完善的菌種保存技術與更好的服務品質。

## II. 菌種鑑定 產業基礎

微生物自古以來即廣泛應用於發酵食品之製造，拜現代科技發展之賜，微生物的應用範圍普及於農業、醫藥、教育、工業、環保，乃至於國防之範疇。在使用這些微生物之前，往往需要先做特性上的確認，以確保安全與效用無虞。其中最基本的就是先確認其屬名與種名，藉由這些菌株的資訊可以協助進行微生物安全性的初步判斷，為後續的應用、開發與品牌創建紮下基礎。

在產業上，菌種鑑定及複核等技術可協助生物產業用種原專利之申請以及專利糾紛之仲裁，並防止這些菌種與技術被不肖份子所剽竊。近年來，隨著微生物學的進步，菌種鑑定及複核技術日新月異，已成為食品與生技產業發展的基石。

本中心擁有全國最先進齊備的微生物分類人才與設備，分類研究技術與世界同步，具有全方位的鑑定能力，十年來接受業界和學界委託鑑定物種，協助專利微生物之申請與保護，獲得經濟部智慧局指定本中心為我國唯一專利微生物寄存機構，在產官研協力創造台灣生技奇蹟的歷程中持續貢獻所長。

### 1.十年耕耘 成果豐碩

統計自民國八十一年至今，本中心總共接受國內業界及學術界等委託，鑑定超過 1034 株，以作為專利申請、生產品管改進及研究開發等用途。委託鑑定菌株來源多樣，涵蓋產業與環境菌株。例如統計過去

三年受委託鑑定的細菌和酵母菌，依分類學上就有 57 屬 108 種，其中以具產業或臨床意義的乳酸菌 *Lactobacillus* 屬、枯草桿菌 *Bacillus subtilis* 菌群與 *Bacillus cereus* 之菌株數量最多。此外，在真菌與放線菌方面則有 27 屬 44 種，其中以具開發價值的 *Aspergillus* 屬、*Penicillium* 屬、*Trichoderma* 屬以及 *Cordyceps* 蟲草子實體的菌株數量最多。這些數據顯示，本中心無論是在分類鑑定的能力與經驗上，居全國之首，因應近年產學界對微生物利用需求的增加，委託鑑定案件數目正逐年穩定上升。

### 2.微生物分類鑑定研究

為提昇對微生物的分類鑑定能力與學術地位，本中心針對具產業利用性與本土特殊環境中的微生物，規畫一系列的研究案，以完整詳細的探索研究開發新的鑑定技術與潛力菌種，改善現有技術的盲點之外，發掘豐富的本土多樣性與潛在資源，成為台灣微生物分類學研究的重鎮。近兩年來，本中心的分類研究題目著重在溫泉嗜高溫細菌 *Meiothermus*、*Thermus*、*Geobacillus*、*Anoxybacillus* 等菌屬、嗜高溫放線菌 *Micromicrobiora*、*Thermoactinomyces* 等菌屬、淡水溪流高等真菌 *Pseudohalonectria*、*Nectria*、*Flagellospora*、*Gliocladium* 及 *Stachybotryna* 等屬、本土丁四醇高產菌 *Moniliella* 屬、產業相關菌種 *Pichia*、*Kluyveromyces*、*Saccharomyces*、*Saccharomycopsis*、產業用紅麴菌種、黃麴菌群及根黴屬等方向與世界性新種發表，並發表

於國際專業期刊，建立本中心之公信力與專業形象。

### 3.使用最先進鑑定技術

隨著近年微生物學的進步，菌種鑑定及複核技術日新月異，並隨著實驗室資料數位化的運用，可以同時處理大量的數據，作更客觀的分析與探討。本中心目前應用在菌種鑑定上的技術，與世界一流水準同步，同時利用傳統與分子生物學方法鑑定菌株。這些技術包含傳統形態學(包括菌落形態以及顯微形態觀察)與生理生化分析(包括碳源利用、氮源利用、產酸性、生長溫度範圍等)、化學鑑定技術(包括細胞壁成分、全細胞糖類成分、脂肪酸成分、磷脂質成分、Quinone、枝菌酸分析等)與分子生物分類鑑定方法(包括核酸片段多型性分析 RFLP、逢機擴增多型性 DNA 分析 RAPD、DNA 定序分析、DNA 同源性)等，這些技術的引入和開發，使得本中心有能力面對任何未知菌種，完成客戶委託。

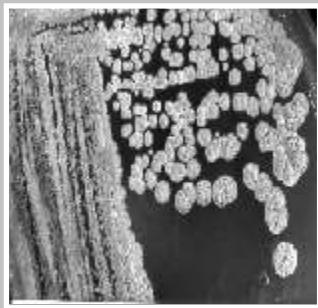
### III. 結語

過去十年，生物資源保存及研究中心在微生物保存與鑑定的領域中，結合無數專業人才的心血，從無到有，研究發展，一步步構築出台灣最堅實的陣容，成為全球知名的生物資源中心，為台灣產業應用與學術研究提供長遠貢獻；未來十年，本中心將在專業化、多樣化與國際化的信念堅持下，深入探索、分離、收集豐富的微生物寶藏，發掘新穎的物種、功能與價值，提供多項生物相關服務(表1)，作為台灣再一次提升飛躍的基石。

表1、微生物資源對外服務內容

服務類別	內容說明
<b>微生物資源之提供</b>	
細菌、放線菌	菌種編號以1開頭的菌株
酵母菌	菌種編號以2開頭的菌株
絲狀真菌、菇類	菌種編號以3開頭的菌株
<b>微生物保存之服務</b>	
公開寄存	菌種分別以冷凍乾燥、-80°C冷凍及液氮冷凍等方式保存，以維持其特性，並分別保存於專用庫房及種子庫房，以避免因意外或天災導致的損失。
秘密寄存	
專利寄存	
<b>微生物之鑑定</b>	
細菌、酵母菌	
絲狀真菌、放線菌	可依需求進行屬名或種名之鑑定
菇類	
<b>鑑定相關技術服務</b>	脂肪酸組成分析、細胞壁胺基酸成分分析、全細胞糖類分析、枝菌酸(mycolic acid)分析、磷脂質(phospholipid)分析、甲基醌(menaquinone)分析、API鑑定套組分析、Biolog鑑定套組分析、Vitek鑑定套組分析、DNA G+C content、DNA hybridization、rDNA部分序列分析、rDNA全序列分析、其他分生方法鑑定如RAPD、AFLP…等。
<b>委託試驗</b>	
菌種分離及純化	從樣品中進行菌種之分離與純化。
乳酸菌之分離檢測	依需求進行乳酸菌、雙歧桿菌屬、鏈球菌屬、腸球菌屬、乳酸球菌屬、乳酸桿菌屬、明串球菌屬、有孢子乳桿菌屬、足球菌屬……等計數服務。
退伍軍人症桿菌分離、檢測	由水樣品中進行嗜肺性退伍軍人菌( <i>Legionella pneumophila</i> )之分離檢測。
菌種委託培養	委託開封活化或非病原性菌株液態培養至2L。
水解酵素活性檢測	進行蛋白質分解酵素、脂肪分解酵素、纖維分解酵素、澱粉分解酵素…等酵素分析。
菌數檢測	生菌數、酵母菌菌數、黴菌菌數…等檢測。
菌種保存管製作	冷凍乾燥、矽膠保存…等保存管之製作。
DNA萃取	細菌、放線菌、酵母菌、絲狀真菌、菇類等生物資源DNA之萃取服務。
微生物基因突變分析	即 Ames test。
<b>顯微鏡樣品製備與觀察服務</b>	
顯微鏡觀察	解剖顯微鏡、光學顯微鏡、螢光顯微鏡…等觀察服務。
光學顯微鏡切片與染色服務	石蠟切片(Paraffin Section)、HE對比染色、樹脂切片(Semi-microtome)、冷凍切片(Frozen Section)…等服務。
掃描式電子顯微鏡 (SEM)	生物樣品製備、臨界點乾燥、樣品覆金膜服務、樣品觀察及影像擷取、拍攝。
穿透式電子顯微鏡 (TEM)	樹脂包埋樣品製備(包含固定、脫水至包埋完成)、樹脂樣品超薄切片、鉛鈎雙重染色、負染色樣品之製備及染色、樣品觀察及影像擷取、拍攝。

註：生資中心對外服務項目與相關費用，請見本中心網站(<http://www.bcrc.firdi.org.tw/>)中之對外服務訊息。生資中心對外服務聯絡窗口03-5223191分機511(菌種諮詢服務)、分機513(寄存、代購服務)、分機248(菌種銷售服務)、分機512(試驗、鑑定服務)，傳真03-5224172。



## 鏈黴菌之遺傳學發展

生資中心／副研究員  
楊淑鳳

圖：鏈黴菌屬 楊淑鳳 提供

### I. 簡介

1870年正值微生物學開始蓬勃發展的初期，就已經出現了關於放線菌中不同種的描述，不過著重於病原菌的研究，例如：癩瘋桿菌、牛隻的放線菌病 (lumpy jaw)…等。由於在平板培養時，這類菌株會產生中央輻射狀的菌落，因此被稱為放射菌。到了1950年，大多數的微生物學家都認為這些菌株並不屬於真菌，但其形態相較於細菌又更為複雜，因此仍然認為放線菌是介於細菌和真菌之間的微生物。到了1968年，Murray提出了原核生物界 (procaryotae) 和真核生物界 (eucaryotae) 的分別，在此標準之下，由於放線菌缺乏核膜，因而被認為是屬於原核生物，自此之後，放線菌就被歸類到細菌。由於在形態上，放線菌和外觀形態簡單的細菌有很大的不同，因此被認為在遺傳學的研究上會獲得較為新穎的成果。

鏈黴菌是普遍存在於土壤表層中的放線菌。它們在大自然生態中扮演重要的清道夫角色，可以分解很多環境中的有機物，將死亡的動、植物逐步分解，應用其中的營養成分轉換成生長所需的能源，同時釋放出各類物質至環境中進行生態系的循環。鏈黴菌會產生 geosmin 這種揮發性化合物，我們一般印象中的泥土味道

就是來自這個物質。除了在生態上的重要性，鏈黴菌產生的抗生素才是引發近代人類注意的最大因素，雖然第一個抗生素(盤尼西林)是在黴菌中發現的，但是目前已知六千多種的抗生素中，約有 2/3 是放線菌所產生的，而其中又以鏈黴菌產生的佔最多數。

### II. 鏈黴菌之特徵

鏈黴菌在最新微生物系統學 (microbial systematics) 中的分類地位歸屬於細菌域 (domain Bacteria)、厚壁菌門 (Firmicutes)、放線菌綱 (Actinobacteria)、放線菌亞綱 (Actinomycetidae)、放線菌目 (Actinomycetales)、鏈黴菌科 (Streptomycetaceae)、鏈黴菌屬 (Streptomyces)。是放線菌中 (亦是細菌中) 最大的一個屬，目前有

478 個種名及 39 個亞種名被正式承認，此屬的標準菌株為 *Streptomyces albus*。

#### 形態特徵：

鏈黴菌屬的營養菌絲細長 (直徑為 0.5 ~ 2.0 μm) 具有分支，氣生菌絲形成且成熟後，其上會產生連鎖狀的節孢子 (arthrospore)，其長短隨種的不同而有所差異，最長可形成 50 個以上的孢子鏈 (spore chain)；孢子鏈的形狀可分為 3 種 (圖 1)：直鏈或波狀 (Rectiflexibles)、不完全的螺旋狀 (Retinaculaperti) 和五個捲以上的螺旋狀 (Spirals)；孢子的形狀有球形、卵形和圓柱形，其表面有平滑型 (smooth)、棘刺型 (spiny)、皺折型 (rugose)、蠟狀 (warty) 以及毛狀 (hairy)，其孢子皆不具有運動性；由氣生菌絲生成的位置又有輪生狀 (Verticillate)；亦有些種具有分生孢子器 (pycnidium)、菌核 (sclerotium)、假孢子囊 (pseudosporangium)、分節孢子囊 (merosporangium) 等構造，還有從營養菌絲上直接產生孢子鏈 (elytrosporangium) 的種；其形態因種的不同而有差異 (圖 2、圖 3)，菌絲的顏色亦有不同。這些形態特徵皆為分類的重要依據之一。

#### 化學特徵：

鏈黴菌屬之化學特徵大致上是：細胞壁胺基酸組成為 LL - A<sub>2</sub>pm 且含有 glycine，全菌體糖類

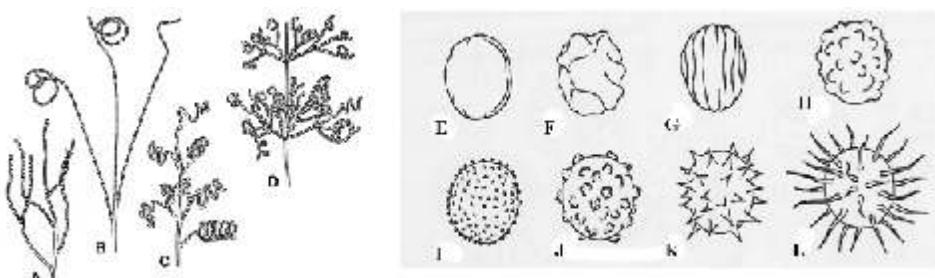


圖 1、鏈黴菌之形態分類

孢子鏈：(A) Rectiflexibles (B) Retinaculaperti (C) Spirals (D) Verticillate  
孢子表面：(E) smooth (F) irregular rugose (G) parallel rugose (H) warty  
(I) tuberculate (J) verrucose (K) spiny (L) hairy

(Atlas of Actinomycetes, 1997)

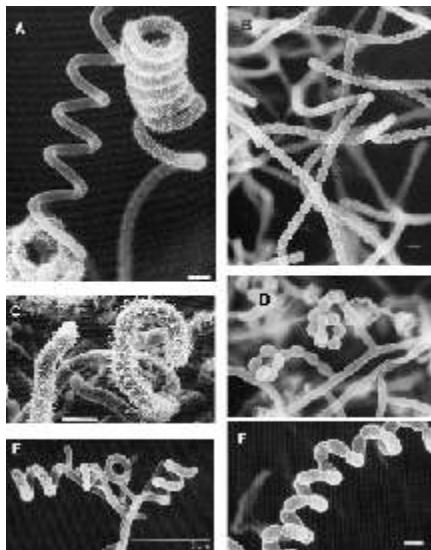


圖2、鏈黴菌之孢子鏈SEM圖  
(A)*Streptomyces violascens*  
(B)*Streptomyces griseus*  
(C)*Streptomyces finlayi*  
(D)*Streptomyces* sp. SF1293  
(E)*Streptomyces hygroscopicus*  
subsp.*aureolacrimosus*  
(F)*Streptomyces* sp. SF2587  
(Atlas of Actinomycetes, 1997)

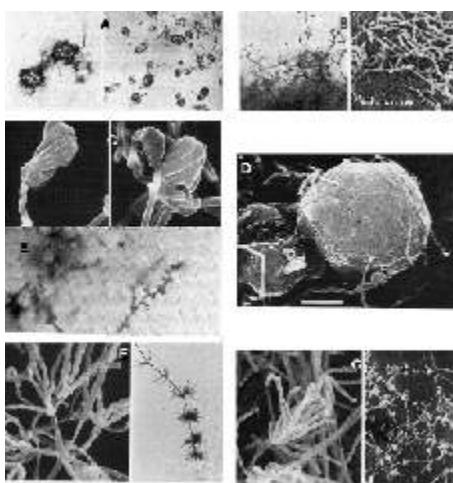


圖3、鏈黴菌之形態

- (A) 菌核(光學, *Streptomyces sclerotialus*)
  - (B) 營養菌絲上生成孢子鏈(左：光學、右：SEM, *Streptomyces spiralis*)
  - (C) 假孢子囊(SEM, *Streptomyces vitaminophilus*)
  - (D) 同(C)
  - (E) 分節孢子囊(光學, *Streptomyces flaveus*)
  - (F) 輪生狀(左：SEM、右：光學, *Streptomyces* sp.)
  - (G) 同(F)(皆為SEM)
- (Identification Manual of Actinomycetes, 2000)

組成無特殊糖類，屬於細胞壁化學型 I；主要的 menaquinone 為 MK-9(H<sub>6</sub>H<sub>8</sub>H<sub>4</sub>)；磷脂質為 PII 型；脂肪酸主要成分為 16:0、iso-16:0、anteiso-15:0/17:0；G+C含量為 69~78 %。

#### 主要應用：

鏈黴菌屬的特徵之一，是會合成許多的二次代謝產物 (secondary metabolites)，二次代謝物是指菌體生長和生存非必需的小分子代謝產物)，可視為生產二次代謝物的工廠。細菌不需要的代謝產物，有時卻是人類相當重要的寶貝，鏈黴菌的二次代謝物中就有許多具有價值的醫藥品，譬如：抗生素、抗腫瘤劑 (Mitomycin C, Aclacinomycin A...)、酵素抑制劑 (Pepstatin A...)、免疫抑制劑 (Rapamycin, Tacrolimus, Gludapsine...)...等，此外其分泌的胞外酵素也有工業上的應用。而其中應用最多的一類是抗生素，目前已知的六千多種抗生素中，大約有 2/3 是由放線

菌所產生的，而其中由鏈黴菌屬產生的佔最多數。

第一個自放線菌中發現的抗生素為鏈黴素 (streptomycin)，是由 Waksman 於 1944 年時自 *Streptomyces griseus* 中發現的，不到兩年就已在臨牀上使用於控制肺結核病。鏈黴素的發現吸引了世界各地的藥廠及學術單位積極展開研究及開發，進而陸續發現許多新的抗生素，而這些抗生素大都來自鏈黴菌，幾乎每一種鏈黴菌都會產生抗生素，而且大多都會產生好幾種，甚至可以高達三十多種！抗生素到底有多重要呢？歷史上最有名，害死十億人的肺結核菌，就是有了鏈黴菌所生產鏈黴素才被控制住，而有趣的是肺結核菌也是一種放線菌，一種放線菌殺死另一種放線菌，這是細菌自家人之間的戰爭。如果沒有抗生素，或者說沒有鏈黴菌的話，許多疾病將無法被控制住，而現代醫藥還處於黑暗時代。

目前抗生素種類有-lactam 類、

Aminoglycosides 類、Macrolide 類、Tetracycline 類、Miscellaneous 類、Terpenoid 類、Polyether 類、Nucleoside 類、Ansamycin 類、glycopeptide 類…等等，約有 14 個種類，其中 52% 抗生素是由鏈黴菌產生，而其他稀有放線菌屬則佔 15%。

#### III. 鏈黴菌分子遺傳學發展階段 (D. A. Hopwood, 1999)

早在 20 世紀 50 年代初期放線菌遺傳學的研究工作就已經開始。鏈黴菌分子遺傳學的發展可分為三個時期：約為 1950-1970 年之體內的遺傳學 (*in vivo*)、80 年代體外的遺傳學 (*in vitro*) 以及 90 年代資訊上的遺傳學 (*in silico*)。體內遺傳學以往一直是所有生物遺傳研究的主要方法，直到 1974 年發展了 DNA 重組技術，隨著生物遺傳訊息技術的建立與運用，才開始了體外遺傳學的研究；到了 20 世紀 90 年代，由於電腦資訊的蓬勃發展，開始了以電腦處理龐大的生物遺傳訊息資料，而進入了生物資訊學時代。

#### 體內 (*in vivo*) 遺傳學

體內遺傳學的發展歷程如表 1；主要是由 1955 年 Sermonti 等人發現在鏈黴菌上之基因重組的現象後，證實了放線菌中存在著類似大腸桿菌的雜交現象，而展開了鏈黴菌體內遺傳研究的序幕。在這段期間有幾個重要的發展：

1958~1965 年 Hopwood 建立了 *Streptomyces coelicolor* 之染色體單一環狀連鎖圖譜 (linkage map) (圖 4)，是表明兩個或兩個以上的基因位點間的距離和位置關係的圖譜，亦稱為遺傳連鎖圖譜 (genetic linkage map)，雖然之後發現鏈黴菌的染色體其實是線型的，但此技術對細菌染色體的建立仍相當有幫助。

1967 年時，由 Khokhlov 等人發現了 A-factor (圖 5)，此為具有類

似賀爾蒙化學特徵的可擴散分子，在低濃度下就能刺激 *Streptomyces griseus* 鏈黴素的生成及孢子的形成，這項發現在之後被大量的運用在其他鏈黴菌上。

1960年代晚期發表的一項具有高度意義的成果是Lomovskaya等人長期針對C31溫和噬菌體(圖6)進行研究得出的。這種噬菌體

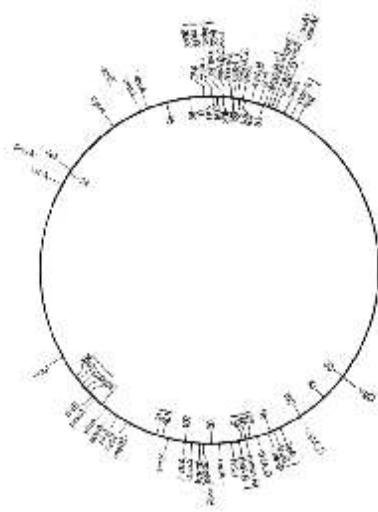


圖4、天藍色鏈黴菌之連鎖圖譜  
(D. A. Hopwood, 1967)

極易感染宿主 *Streptomyces lividans* 66，因而使得此菌被積極研究。

1969~1973年 Hopwood等人發現NF及UF菌株(現在已知NF為帶有SCP1質體，而UF則無)在交換後，會產生大量的重組體，可以被無選擇性地分析，這種現象很少出現在細菌上；而10年後(1987年)則證實了大且為線型的SCP1質體(350 kb)存在，這個質體變成了第一個也是最好的一個例子，說明質體帶有一系列抗生素合成的基因；1970年代早期開始發展抗生素合成基因的圖譜研究。

在1975年後則發現了SCP2質體，此發現帶起了鏈黴菌的轉形

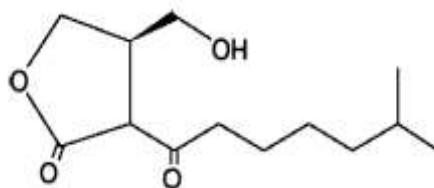


圖5、A-factor之結構  
(D. A. Hopwood, 1999)

技術(transformation)；1970年代後期為質體生物學的開始，而後並發展放線菌的轉導技術(transduction)。

### 體外(*in vitro*)遺傳學

體外遺傳學的發展歷程如表2。在1980年時首先出現了鏈黴菌基因選殖的報告，將鏈黴菌的遺傳研究帶入了體外研究的時代，並且發展了以抗生素的抗性作為選擇性標記(selective marker)的載體技術，最有名的例如：*tsr*基因(thiostrepton resistance)；1982年發現鏈黴菌具有遺傳不穩定性的現象是由於染色體部分區域發生

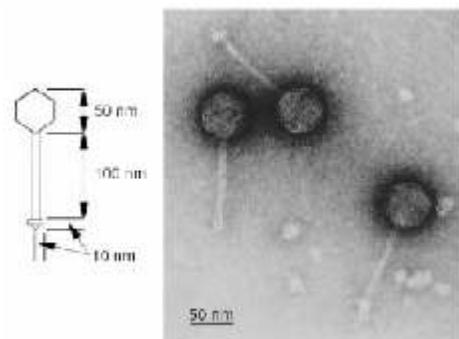


圖6、C31溫和噬菌體之TEM圖  
(D. A. Hopwood, 1999)

表1、體內遺傳學的發展歷程

Year	Discovery	Reference
1955~57	Genetic recombination	Sermenti & Spada Sermenti (1955), Alidhanian & Mindlin (1957), Brzencik & Szybalska (1957), Hopwood (1957), Sato (1957).
1958	Rudimentary linkage analysis	Hopwood (1958, 1959)
1960	Heteroclines discovered	Hopwood et al. (1960), Hopwood et al. (1963)
1963	Single (auxotrophic) linkage group	Hopwood (1963)
1967	Ancestral genome duplication?	Hopwood (1967)
	Discovery of A factor ( <i>in S. griseus</i> )	Khochikov et al. (1967)
1969~73	The SCP1 plasmid and fertility	Hopwood et al. (1969), Vining & Hopwood (1971, 1972), Vining (1972), Hopwood & Wright (1972); Lomovskaya et al. (1972)
1970	Discovery of φC31 and <i>S. lividans</i> 66	Hopwood et al. (1970), Chater (1972)
1970~72	Morphological mutants mapped	Okanishi et al. (1970)
1974	Protoplast formation and regeneration	Okanishi et al. (1974)
1975	First CCC plasmid (SCP2) isolated	Schramm et al. (1975)
	Methylenomycin genes are on SCP1	Kirby et al. (1975), Kirby & Hopwood (1977)
1976	Antibiotic-pathway mutants mapped to the chromosome	Wright & Hopwood (1976b)
1977	Recombination via protoplast fusion	Hopwood et al. (1977), Baltz (1979)
1978	Protoplast transformation	Bibb et al. (1978)
	Plasmid-induced "pecks"	Bibb et al. (1978)
1979	Transduction discovered ( <i>in S. coeruleoroseus</i> )	Stattard (1979)
	Linear plasmids discovered ( <i>in S. mutcheskii</i> )	Hayakawa et al. (1979)
1981	Integrating plasmids discovered	Bibb et al. (1981)

(D. A. Hopwood, 1999)

表2、體外遺傳學的發展歷程

Year	Discovery	Reference
1980	First genes cloned in <i>Streptomyces</i>	Bibb et al. (1980), Sauer & Chater (1980), Thompson et al. (1980)
1981	First report of amplified DNA sequences	Robinson et al. (1981)
1982	Isolation of promoter sequences	Bibb & Cohen (1982)
1983	First <i>Streptomyces</i> gene sequenced ( <i>tsr</i> of <i>S. griseus</i> )	Thompson & Gray (1983)
	Antibiotic-pathway genes cloned	Chater & Bruton (1983), Faitheen & Hopwood (1983), Gil & Hopwood (1983)
1984	Complete antibiotic pathway ( <i>acr</i> ) cloned	Malpani & Hopwood (1984)
	PhASII program for gene recognition	Bibb et al. (1984)
1985	Developmental gene ( <i>mlcA</i> ) cloned	Hopwood et al. (1985)
	'Hybrid' antibiotics	Westpheling et al. (1985), Buttner et al. (1988)
	Sigma factor heterogeneity	Bibb et al. (1985), Buttner et al. (1987)
	Multiple promoters for the same gene	Chater & Bruton (1985)
	Linkage of antibiotic-biosynthetic, -regulatory and -resistance genes	Hopwood et al. (1985b)
	John Jones Laboratory Manual published	
1986	Fus. <i>Streptomyces</i> transposon discovered	Chang (1987)
1987/88	Operon structure ( <i>gal</i> and <i>gfp</i> )	Forward et al. (1987), Smith & Chater (1988)
1989	Transduction without <i>S. mutcheskii</i> sequences	Jansen et al. (1989)
	Conjugation between <i>E. coli</i> and <i>Streptomyces</i>	Mazuelas et al. (1989)

(D. A. Hopwood, 1999)

大規模的刪除，而且有時也會發生某些片段頭尾銜接的大規模放大。這些刪除及放大的區域可以高達1000 kb左右，這個發現提供了日後證實鏈黴菌染色體為線性的證據之一。

這個時期主要有兩個研究的方向：

1. 對分子生物學及生理學的基本遺傳特性了解，例如：基因及操縱子(operon)的結構，轉錄(transcription)、轉譯(translation)及一級代謝的控制。

1982年鏈黴菌的啓動子(promoter)序列被測定後，第一個鏈黴菌基因(aminoglycoside phosphotransferase gene)隨即被定序完成，而後發現許多基因上有多個轉譯起始點，可能跟生活史上不同階段或不同生理狀態的控制表現需要有關。

這些年 *S. coelicolor* 發現不同的 sigma factor，至今已有至少 20 種，甚至比枯草桿菌 (*B. subtilis*) 多。且 1985~1988 年的研究顯示，*S. coelicolor* 具有多種形式的 RNA 聚合酶全酶 (RNA polymerase holoenzyme)，這可能是跟鏈黴菌具有不同基因的不同調控機制有關。

1987~1988 年開始出現鏈黴菌操縱子(*gal* 和 *gyr*)的相關研究報導。

1989 年時有一個驚人的發現，鏈黴菌基因大量表現時，mRNA 起始密碼子(start codon)前端無 Shine-Dalgarno sequence。

2. 使用基因選殖的方法去了解鏈黴菌的一些特殊特徵的遺傳，特別是用於抗生素生產及發育過程的研究。

1983 年第一個抗生素生合成基因被選殖(clone)成功，隨後完整生合成路徑的 *act* 基因 (負責 *actinorhodin* 生合成) 被分離出且表現在不同的鏈黴菌宿主中。

1984 年時 Chater 和 Bruton 研究發現抗生素 methylenomycin 的生合成基因群(位於 SCP1 質體上)同時具有抗性、生合成及調節基因，抗性基因可保護生產菌株本身，不受抗生素影響，而不活化調節基因區後，則可生產過量的抗生素。

1985 年，Hopwood 等人利用遺傳工程製造發表出第一個雜合(hybrid)的抗生素 mederrhodin (同時具有 medermycin 和 actinorhodin 的結構特徵)。

1987 年在 *S. fradiae* 中發現了第一個鏈黴菌的轉位子(Tn3-type transposon)。

1989 年 Mazodier 等人證明了質體可經由接合作用(conjugation)從大腸桿菌傳遞至鏈黴菌。

### 資訊(*in silico*)遺傳學

資訊遺傳學的發展歷程如表 3。如果將資訊遺傳學定義為將新測定的 DNA 序列和資料庫中已有的序列做比較而得出基因之功能的方法，那麼鏈黴菌資訊遺傳學應該在 1987 年時，分析 *S. coelicolor* 之 *bldA* 基因序列開始。

在 1990 年代，也就是鏈黴菌資訊遺傳學蓬勃發展的時代，尤其是在抗生素的生合成方面，資訊遺傳學扮演決定性的角色；由於以分子遺傳學研究 granaticin、tetracenomycin 及 erythromycin 這些抗生素的生合成過程，而清楚了解了 polyketide synthases (type I、III、III) 的功能及其基因序列。Type I PKSs 是一個大的蛋白質帶有不同酵素的功能(至今只有真核生物有)(圖 7)；Type II PKSs 是一個多酵素複合體，至今發現的皆具有相似的基因組織結構(圖 8)；Type III PKSs 類似 chalcone synthase (最早在植物中發現的)，是最近幾年才被發現的。這些強大的酵素將醋酸(acetate)、蘋果酸(malonate)和其他簡單的有機酸合成一系列長短不一，但是在生物、醫藥和農業上都是相當重要的化合物，這些芳香類且複雜的 polyketide 的發現打開了一個新的研究領域，即是以 polyketide synthases 的遺傳工程技術發展出非天然的天然物質之化合式生合成(combination biosynthesis)方法。

表 3、資訊遺傳學的發展歷程

Year	Discovery	Reference
1987	<i>bldA</i> is a tRNA gene	Lawlor <i>et al.</i> (1987)
1988	Complete sequence of pIJ101	Kendall & Cohen (1988)
1989	<i>whiG</i> encodes a developmental sigma factor	Chater <i>et al.</i> (1989)
	Type II polyketide synthase organization	Bibb <i>et al.</i> (1989), Sherman <i>et al.</i> (1989)
1990~91	Modular polyketide synthases (ery in <i>S. erythraea</i> )	Cortes <i>et al.</i> (1990), Donadio <i>et al.</i> (1991)
1992	Physical map of the <i>S. coelicolor</i> chromosome	Kieser <i>et al.</i> (1992)
1993	The chromosome is linear	Lin <i>et al.</i> (1993)
	Combinatorial biosynthesis of polyketides	McDaniel <i>et al.</i> (1993)
1994	Model for linear plasmid (and chromosome) replication	Chang & Cohen (1994)
	ECF subfamily of sigma factors discovered	Lonetto <i>et al.</i> (1994)
1996	Serine/threonine protein kinase (AfsK)	Matsumoto <i>et al.</i> (1994)
	Ordered cosmid library for <i>S. coelicolor</i> chromosome	Redenbach <i>et al.</i> (1996)
1997	<i>S. coelicolor</i> genome sequencing project starts	<a href="http://www.sanger.ac.uk/Projects/S_.coelicolor">www.sanger.ac.uk/Projects/S_.coelicolor</a>
1999	SARPs recognized as OmpR relatives	Wietzorek & Bibb (1997)
	Complete sequence of $\phi$ C31 phage	Smith <i>et al.</i> (1999)
	2Mb (out of 8Mb) of <i>S. coelicolor</i> genome sequenced (January)	<a href="http://www.sanger.ac.uk/Projects/S_.coelicolor">www.sanger.ac.uk/Projects/S_.coelicolor</a>

(D. A. Hopwood, 1999)

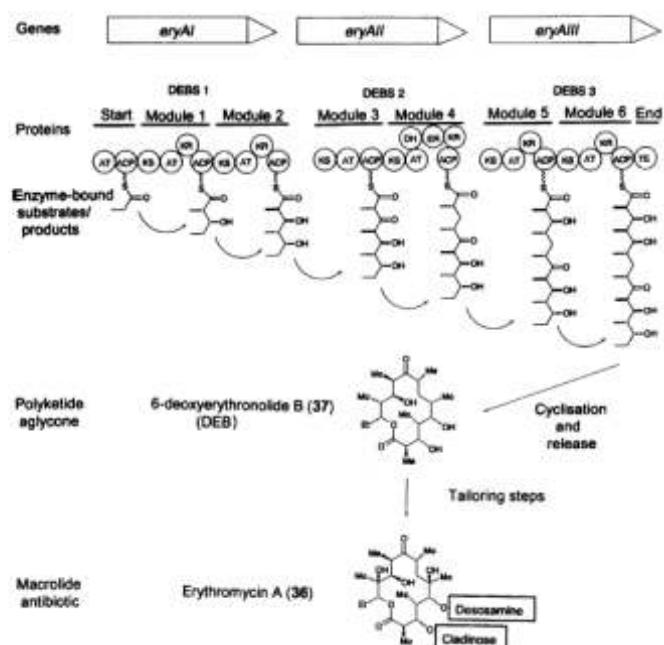


圖7、Erythromycin之生合成  
(Type I polyketide synthases)  
(D. A. Hopwood, 1999)

其他重要的成果還有1994年Matsumoto等人成功地自*S. coelicolor*及*S. lividans*的*afsK*序列中推測出第一個細菌之serine/threonine protein kinase (至今只有真核生物有)的存在；同年他們將*S. coelicolor*之*sigE*基因序列和資料庫中的已知序列做比較，因而發現了一個新的sigma factors的ECF subfamily；1997年SARP(鏈黴菌之抗生素調節蛋白)和OmpR-type DNA結合蛋白同源的發現；1999年C31溫和噬菌體的41,489 bp DNA定序完成；2002年*S. coelicolor*A3(2)全基因體解碼。

#### IV. 天藍色鏈黴菌全基因體解碼

研究鏈黴菌遺傳最有貢獻的學者應為英國的David A. Hopwood教授，其自攻讀博士學位即開始研究放線菌至今，對於鏈黴菌遺傳學的發展貢獻極大，主要使用的研究菌株為天藍色鏈黴菌A3(2) (*S. coelicolor*)；在約50年對鏈黴菌遺傳學的研究期間，在對*S. coelicolor*遺傳重組的研究上，他設計了一個新的建構連鎖圖(linkage map)的方法，基因的相對位置是根據遺傳距離而定的，而遺傳距離是利用基因之間發生重組的頻率計算出來的，利用這種方法，他在1965年發表*S. coelicolor*具有單一環狀的基因連鎖圖；但在1993年時，台灣學者陳文盛和其學生林怡杏及Helen Kieser發現*S. lividans*鏈黴菌的染色體其實是線性的，但有能力變成環狀。隨後證實了*S. coelicolor*的染色體亦是線性的，打破了大家長久以來的認知「細菌的染色體為環狀的」。在2002年，Hopwood教授領導英國學者和台灣學者共同完成了此菌的全基因體定序。

#### 天藍色鏈黴菌之簡介：

天藍色鏈黴菌(*S. coelicolor*)來自土壤中，*coelicolor*的意思為藍色，因為此菌會分泌出藍色的色素，而此色素為一種抗生素actinorhodin，其亦會產生紅色抗生素undecylprodigiosin。孢子鏈為直鏈或波狀(Rectiflexibles)，成熟的孢子鏈通常有10~50個孢子，甚至大於50個，孢子表面為平滑型。菌絲及孢子的顯微構造及其生活史如圖9所示。

#### 全基因體解碼：(S. D. Bentley et al., 2002)

2002年，英國的Hopwood教授領導英國學者和台灣學者共同完成了天藍色鏈黴菌A3(2)的全基因體定序(圖10)，並發表於NATURE期刊上，此菌的染色體大小有8,667,507個鹼基對，為線形，是被完全解碼的細菌中最大的染色體。天藍色鏈黴A3(2)被預測具有7,825個的基因(表4)，為同樣是放線菌的肺結核菌*Mycobacterium tuberculosis*具有基因的兩倍

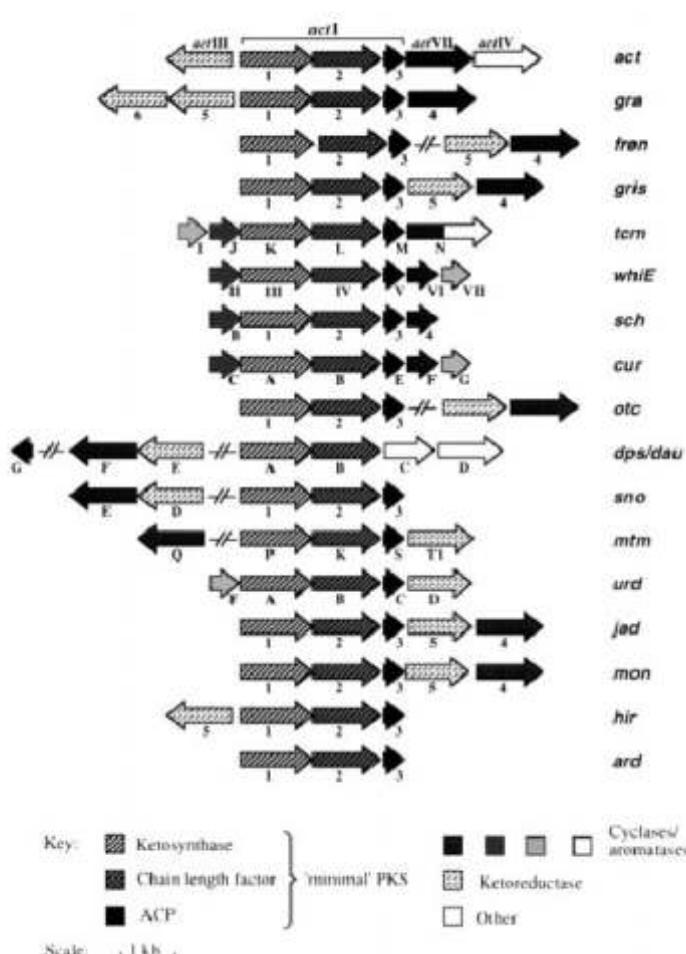


圖8、Type II polyketide synthases之基因組  
(gene clusters) (D. A. Hopwood, 1999)

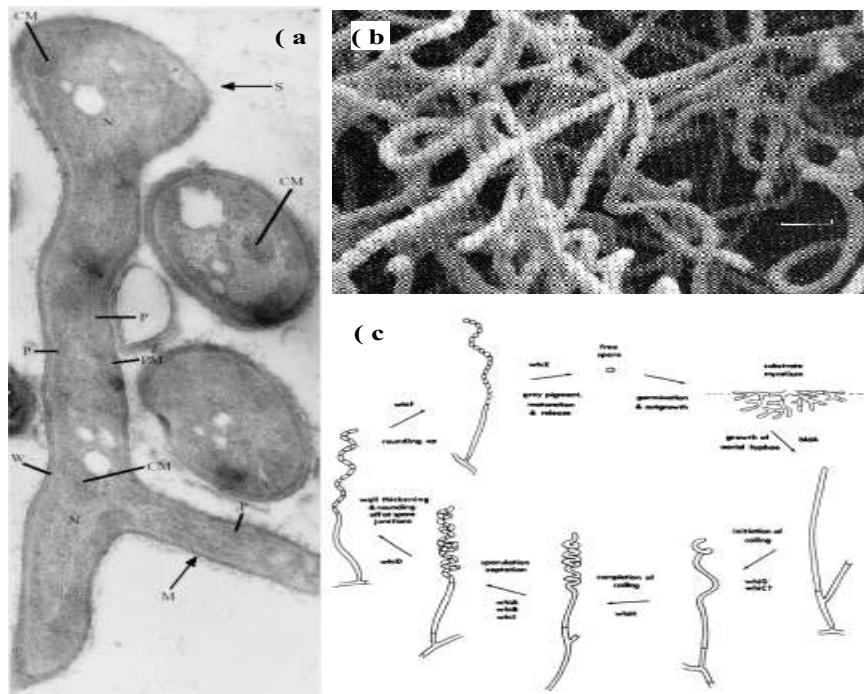


圖9、天藍色鏈黴菌之特徵

(a) 菌絲及孢子之TEM圖 (D. A. Hopwood, 1999)(W) cell wall (PM) plasma membrane (P) peripheral pockets of membranous material (N) the fibrillar nuclear material (CM) intracytoplasmic membranous regions (later called mesosomes)

(b) 孢子鏈之SEM圖 (Atlas of Actinomycetes, 1997)

(c) 生活史 (D. A. Hopwood et al., 1999)

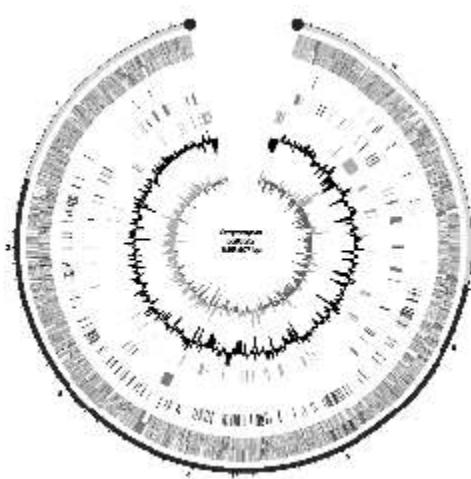


圖10、天藍色鏈黴菌之染色體

The outer scale is numbered anticlockwise (to correspond with the previously published map8) in megabases and indicates the core (dark blue) and arm (light blue) regions of the chromosome. Circles 1 and 2 (from the outside in), all genes (reverse and forward strand, respectively) colour-coded by function (black, energy metabolism; red, information transfer and secondary metabolism; dark green, surface associated; cyan, degradation of large molecules; magenta, degradation of small molecules; yellow, central or intermediary metabolism; pale blue, regulators; orange, conserved hypothetical; brown, pseudogenes; pale green, unknown; grey, miscellaneous); circle 3, selected 'essential' genes (for cell division, DNA replication, transcription, translation and amino-acid biosynthesis, colour coding as for circles 1 and 2); circle 4, selected 'contingency' genes (red, secondary metabolism; pale blue, exoenzymes; dark blue, conservon; green, gas vesicle proteins); circle 5, mobile elements (brown, transposases; orange, putative laterally acquired genes); circle 6, G + C content; circle 7, GC bias ((G 2 C/G + C), khaki indicates values .1, purple, 1). The origin of replication (Ori) and terminal protein (blue circles) are also indicated. (S. D. Bentley et al., 2002)

之多，和其他菌做比較：格藍氏陰性菌 *E. coli* 有 4,289 個；格藍氏陽性產孢菌 *Bacillus subtilis* 有 4,099 個；低等真核菌 *Saccharomyces cerevisiae* (酵母菌) 有 6,203 個，如此多量的基因可反映出其產生的蛋白質多樣性，許多蛋白質牽涉到調節 (regulation)、運輸 (transport) 及降解胞外營養物質 (degradation)，其中有 965 個蛋白質 (12.3%) 被預測具有調節功能；614 個蛋白質 (7.8%) 被預測具有運輸功能，以適應複雜的土壤環境；819 個蛋白質 (10.5%) 被預測具有降解功能，使其能夠利用土壤內的營養物質。另外，發現有 18 組基因群 (clusters) 所產生的蛋白質具有酵素特性，與二次代謝有關，例如：polyketide synthases (PKSs)、chalcone synthases、non-ribosomal peptide synthases (NRPSs)、terpene cyclases 等，可以產生多種二次代謝產物 (圖 11)：

※ 抗生素 (先前研究已被發現) – 有 3 組基因群負責抗生素生產：actinorhodin (SCO5071-5092)、red oligopyrrole prodiginine antibiotic (butyl-meta-cycloheptylprodiginine 和 undecylprodiginine) (SOC5877-5898) 以及 non-riboosomal peptide CDA (CDA1, CDA2, CDA3b, CDA4b) (SCO3210-3249)。

※ 親鐵物質 (siderophores) – 至少有 3 組基因群負責親鐵物質生產，顯示天藍色鏈黴菌 A3(2) 具有在低鐵的環境下亦能獲得鐵離子，以本身供利用：desferrioxamines (desferrioxamine G1 和 desferrioxamine E) (SOC2782-5898)、coelichelin (SCO0489-0499) 以及 coelibactin (被預測的，SCO7681-7691)。

表4、天藍色鏈黴菌之染色體遺傳特徵

Component of chromosome	Property
Total size	8,667,507 bp
Terminal inverted repeat	21,653 bp
G + C content	72.12%
Coding sequences	7,825
...of which pseudogenes	55
Coding density	88.9%
Average gene length	991 bp
Ribosomal RNAs	6 × (16S–23S–5S)
Transfer RNAs	63
Other stable RNAs	3

(S. D. Bentley et al., 2002)

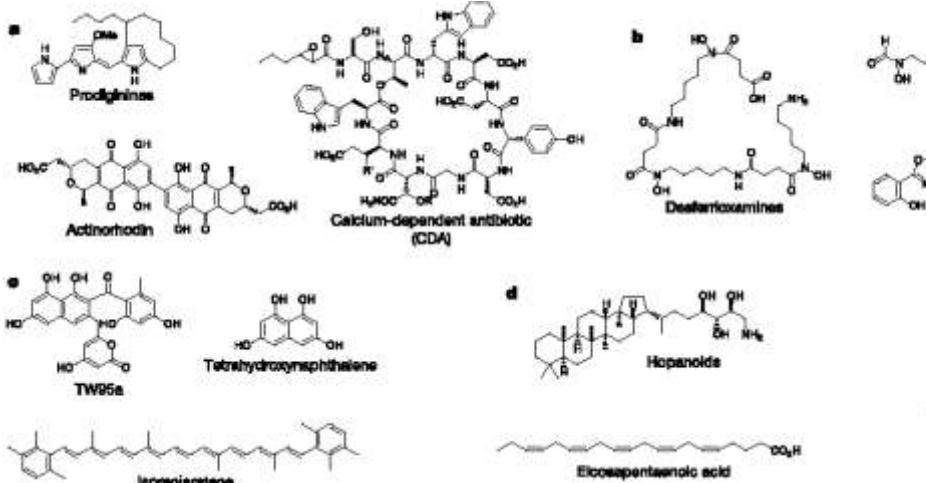


圖11、由天藍色鏈黴菌生產之二次代謝物(已知或預測的)

(a)antibiotics (b)siderophores (c)pigments  
(d)lipids (e)other molecules

(S. D. Bentley et al., 2002)

※ 色素 (pigments) — *Whi E* 可表現出第二型 polyketide synthase 活性，產生灰孢子色素 (grey spore pigment) (SCO5314-5320)；tetrahydroxynaphthalene (被預測出的，SCO1206-1208)；carotenoid isorenieratene (SCO0185-0191)。

※ 脂質 (lipids) — hopanoids (aminotrihydroxybacteriohopane 和 hopene) (SCO6759-6771)可以保護氣生菌絲的細胞膜對抗低水環境；eicosapentaenoic acid (SCO0124-0129)可以在低溫下維持膜的流動性。

※ 其他 — sesquiterpene cyclase (SCO6073)可能牽涉 geosmin 的生合成；butyrolactones (SCO6073)。

天藍色鏈黴菌A3(2)的染色體具有多量基因序列，使此菌擁有複

雜的生活史，使其可以生活在高度競爭的土壤環境裡，利用更多的營養成分。此菌可產生大量的非典型代謝酵素，相當具有發展潛力，有些很可能牽涉到新自然產物的合成，了解這些酵素以及抗生素生合成的基因和調控機制，有助於日後利用基因工程技術研發出能對付超級細菌的新藥。

## V. 結論

各種鏈黴菌對抗生素都是敏感的，包括生產菌株本身也是如此。這些生產菌株通常在抗生素的生合成基因群中會帶有1~2個抗性基因，當菌株在製造抗生素時，抗性基因也會同時表現，以保護菌株本身，不受抗生素影響。這些抗性基因與在一般病原菌之間的抗藥基因很相似，因此也可能是後者演化上的來源。在

大量使用抗生素下，細菌可能就會產生抗藥性，因此醫藥界必須不斷開發新的抗生素，才能對付具有抗藥性的細菌。藉由解開天藍色鏈黴菌的染色體基因組合，能夠了解其製造抗生素的生合成機制後，進而可能製造出新的抗生素。

## VI. 參考文獻

1. Atlas of Actinomycetes. 1997. Edited by The Society for Actinomycetes Japan.
2. Bentley, S. D., K. F. Chater, A.-M. Cerdeno-Tarraga, G. L. Challis, N. R. Thomson, K. D. James, D. E. Harris, M. A. Quail, H. Kieser, D. Harper, A. Bateman, S. Brown, G. Chandra, C. W. Chen, M. Collins, A. Cronin, A. Fraser, A. Goble, J. Hidalgo, T. Hornsby, S. Howarth, C.-H. Huang, T. Kieser, L. Larke, L. Murphy, K. Oliver, S. O'Neil, E. Rabbinowitsch, M. A. Rajandream, K. Rutherford, S. Rutter, K. Seeger, D. Saunders, S. Sharp, R. Squares, S. Squares, K. Taylor, T. Warren, A. Wietzorek, J. Woodward, B. G. Barrell, J. Parkhill & D. A. Hopwood. 2002. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *NATURE*, 417, 141-147.
4. Gerber, N. N. and H. A. Lechevalier. 1965. Geosmin, an Earthy-Smelling Substance Isolated from Actinomycetes. *Applied microbiology*, 13(6), 935-938.
5. Hopwood, D. A. 1967. Genetic Analysis and Genome Structure in *Streptomyces coelicolor*. *Bacteriological reviews*. 31(4), 373-403.
6. Hopwood, D. A. 1999. Forty years of genetics with *Streptomyces* : from *in vivo* through *in vitro* to *in silico*. *Microbiology*, 145, 2183-2202.
7. Hopwood, D. A., K. F. Chater, J. E. Dowding and Alan Vivian. 1973. Advances in *Streptomyces coelicolor* Genetics. *Bacteriological reviews*. 37(3), 371-405.
8. Identification Manual of Actinomycetes. 2000. Edited by The Society for Actinomycetes Japan.

# 審定公告之專利寄存生物材料

資料範圍自94年7月至94年9月

專利名稱關鍵字/公告號	寄存生物材料名稱	BCRC編號	專利申請人
可誘發之單一成分植物基因 標記物/I233332	pINAc(in <i>E. coli</i> DH5á)	940337	中央研究院
重組皺褶假絲酵母菌脂肪 /I233450	pGAPZáC-LIP2 pPICZáB-LIP3 pPICZáB-LIP5 pPICZáB-LIP8	940373 940374 940375 940376	中央研究院
含有高濃度葉綠素之耐鹽性 綠藻/I233944	綠球藻( <i>Chlorella</i> sp.) M-207 A7	980005	麒麟麥酒股份有限公司(日本)
生產L-麴胺酸之細菌及生產 L-麴胺酸之方法/I235177	<i>Klebsiella planticola</i> AJ13399 <i>Klebsiella planticola</i> AJ13410 <i>Pantoea agglomerans</i> AJ2666	910123 910124 910125	味之素股份有限公司(日本)
製造L-麴胺酸之細菌及製造 麴胺酸之方法/I235179	<i>Enterobacter agglomerans</i> AJ13355 <i>Enterobacter agglomerans</i> AJ13356	910121 910122	味之素股份有限公司(日本)
FIV-141病毒之核酸分子、 包含醫藥組成物、及用途 /I237664	質體pFIV-141-B1	940261	輝瑞製品股份有限公司(美國)
抗原特異性之細胞傷害性T 細胞擴大培養方法/I235764	<i>Flavobacterium</i> sp. SA-0082 <i>Alteromonas</i> sp. SN-1009	910069 910070	寶生物股份有限公司(日本)
體外免疫吸附裝置/I238251	pBac-AChR $\alpha$ -ECD-hIgG1 Fc(於大腸桿菌JM109 中)Ana-P3	940305	華星生物科技股份有限公司
豬徵漿菌疫苗、其製法及用 途/I238721	豬鼻徵漿菌( <i>Mycoplasma hyorhinis</i> )ATIT-7	910223	財團法人台灣動物 科技研究所

- 說明：1.上述生物材料為申請專利而依有關專利申請之生物材料寄存辦法寄存於食品所，相關專利已審定公告，其專利名稱之關鍵字、專利公告號及專利申請人資料如上表。  
 2.任何人可依有關專利申請之生物材料寄存辦法第十七條向食品所申請提供上述生物材料，作為研究及實驗用。  
 3.洽詢專線：(03)5223191 轉 233 或 513。

## 生物資源保存及研究簡訊 第63期

發行者：財團法人食品工業發展研究所

發行人：劉廷英所長

主 編：陳倩琪

編 輯：鄭銘仁、傅惠美、邱雪惠  
陳智偉、許名宜、廖麗娟

本著作權依補助契約歸屬財團法人食品工業發展研究所

地址：新竹市食品路331號

電話：(03)522-3191-6

傳真：(03)5224171-2

承印：彥光打字印刷商行

電話：(03)530-1116

ISSN:1021-7932

GPN:2009001214

ISSN 1021-7932

