

財團法人食品工業發展研究所

第 67 期

生物資源保存及研究簡訊

第19卷第3期

中華民國95年9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

- ◎ 本所生物資源中心參加 Bio Taiwan 2006 台灣生物科技大展
參展主題：探索生物資源，創造產業價值

研發專欄 2

- ◎ 本所生資中心在稻米品種鑑定技術之研發與服務

知識專欄 5

- ◎ 基因改造微生物所衍生食品之安全性評估簡介

基改小百科 8

科技報導 9

- ◎ 新DNA定序技術發展趨向快速且低價的定序
- ◎ 從大腸桿菌中輕鬆地抽取重組蛋白
- ◎ DrugBank：一個用來作藥物開發與探索的整合性電子資料庫

專利微生物 12

- ◎ 審定公告之專利寄存生物材料

本所生物資源中心參加Bio Taiwan 2006 台灣生物科技大展 參展主題：探索生物資源，創造產業價值



▲ Bio Taiwan 2006台灣生物科技大展中，本所生資中心同仁向國外來訪廠商展示及說明本所研發之回收製程及保存技術。
(圖：企劃室羅瑞娟小姐提供)



▲ Bio Taiwan 2006台灣生物科技大展中，本所生資中心創新開發微生物來源之纖維素作為面膜基質，並技轉國內廠商進行商品化。
(圖：生資中心田志仁先生提供)

今年台灣生技月『Bio Taiwan 2006 台灣生物科技大展』活動於7月27日至30日在台北世貿中心舉行。本所生物資源中心今年以『探索生物資源，創造產業價值』為參展主題。展示內容包括：1.建立與開發本土微生物發酵庫，介紹本所生物資源中心如何運用所收集之台灣特殊微生物資源，建構成發酵產物樣品，以創造及提昇微生物資源的附加價值；2.造血幹細胞增殖創新技術，本所已開發出造血幹細胞之無血清增殖技術，並成功誘導無血清增殖之造血幹細胞分化為自然殺手細胞及血小板前驅細胞，將可應用在臨床細胞免疫療法與血液製劑上；3.本土基因資源庫保存及服務，以系統化的管理方式，建立基因庫超低溫冷凍保存管理體系，收集保存與提供國內外基因庫及遺傳資源，並提供基因庫建構與保存等相關服務；及4.醋酸菌於化妝品工業之加值應用，此創新研發技術，利用醋酸菌生產之Nata作為化妝面膜之基材。Nata為細菌纖維素所構成，具有幾近奈米等級之孔隙度，且為生物相容性高之天然材料，其在化妝品工業上的應用潛力無窮。本所生物資源中心此次展示主題鮮明且創新，吸引許多民眾及業者的參觀，並與解說人員針對展出主題及其他相關學術議題進行深入的交流及討論。

(文：生資中心高宜廷副研究員)

本所生資中心在稻米品種鑑定技術之研發與服務

生資中心／研究員
陳任道

I. 前言

本所為配合農糧署於94年舉辦之「純正台灣米」活動進行稻米品種鑑定及CAS良質米推動相關業務，自農糧署移轉台灣大學農藝所發展之「一種利用分子標誌鑑定稻米品種之方法」，並由本所生資中心研究人員進行改良，使成為常態性之委託服務。該項委託服務從94年3月開始至今，已成為本中心一項重要的技術服務，以下就國內稻米現況與稻米品種鑑定技術之研發改良作一簡單之介紹。

II. 國內稻米現況

我國自72年度推動稻田轉作休耕計劃起，即有計劃性的調整稻作面積，水稻產量由72年248.5萬公噸減少至116.5萬公噸，而我國自91年加入WTO在市場開放的規範下，每年進口食米數量14萬4720噸，其中65%由政府進口，35%由民間進口，91-93年稻米約有60%來自美國，20%來自泰國，10%來自埃及，10%來自澳洲，另外有極少量之稻米(合計小於0.4%)來自日本、德國、義大利、菲律賓、緬甸、比利時及西班牙。

國內目前小包裝白米價格差異頗大，一般米平均價格每公斤為55.3元，最低價每公斤為29.8元，最高價每公斤為183.3元，良質米平均價格每公斤81.7元，最低價每公斤為36.3元，最高價每公斤為326.7元，影響米價的主要因素為米質的好壞，而影響米質的因素相當多，主要包括了米品種、種植地區之土質與氣候及栽培方法、採收後之乾燥與儲存。良質米的品種需具有優良性狀的品種，在良質米地區栽培試作，經過兩年四期作之品質查證，農民反應及市場價格良好者才能獲得推薦為良質米種，良質米推薦品種由最早74年3種(台農68號、新竹64號、越光)到94年13種(台梗2號、台梗5號、台梗8號、台梗9號、台梗11號、台梗14號、台梗16號、台梗17號、台農71號、高雄139號、台中秈10號、桃園1號、越光)，20年來品種更替顯示有更多的優良品種被育成，有些品種則一直維持為良質米推薦品種(台梗2號、台梗5號、台梗8號、台梗9號、高雄139號、台中秈10號、越光)，現階段以台梗2號、台梗8號、台梗9號、台梗14號、台梗16號等種植面積較多、分佈較廣，高雄139號僅侷限於花東區。

III. 稻米品種鑑定技術之研發改良

由於稻米品種種類繁多，很多品種外觀上相似，單憑視覺無法辨識，利用DNA技術進行稻米品種鑑定之研究是一值得注意的課題。最初學者是利用 restricted fragment length polymorphism (RFLP)來區分水稻之品種，如以RFLP研究12種 indica 及14種 japonica 水稻遺傳性質之差異性；或利用一種酵素作用DNA後，以十三個探針進行之RFLP分析，區分indica及japonica稻米。其後以PCR為基礎的分子標記技術用於稻米品種鑑定之研究日益增多，如利用random amplified polymorphic DNA (RAPD) 於japonica 水稻栽培種之分類。雖然 RAPD較 RFLP易於操作，但由於引子是隨機的特性，使其結果之再現性不高，amplified fragment length polymorphism (AFLP)隨後取而代之，如利用AFLP分析42種 Indian 水稻，每種品種皆有其獨特的圖譜，及利用AFLP於區分烏拉圭之野生稻與栽培稻。AFLP的再現性比 RAPD高，但是流程過於複雜，於是學者利用110種水稻之 simple sequence repeats (SSR) marker (或稱為 microsatellite marker)分析38種水稻栽培種，發現以30種SSR marker即可完全區分此38種水稻。台灣大學農藝系研究團隊所研發之水稻品種鑑定技術主要就是利用SSR marker進行鑑定，篩選過數百種SSR marker後，選定約十一種主要鑑定marker，用以區分目前國內流通之水稻品種。

本所94年度自農糧署移轉台大農藝所發展之「一種利用分子標誌鑑定稻米品種之方法」，以提供稻米品種鑑定服務，但在實際應用時發現此稻米品種鑑定技術鑑定流程過於繁瑣費時，工作量大且無法處理較大的樣品量，PCR產物片段大小相近很容易造成誤判，且無法鑑定出混米中所含稻米之品種。在本所及農糧署經費用補助下，將引進之「一種利用分子標誌鑑定稻米品種之方法」加以改良，建立了(1)組合式SSR引子PCR鑑定方法、(2)單一米粒抽取DNA技術、(3)五顆米混米鑑定方法，以應用於本所對外提供之稻米品種鑑定服務及配合農糧屬之「純正台灣米」活動之稻米品種鑑定。目前本所已建立國內主要種植及常見之國外稻米品種共48個品種的稻米資料庫，主要服務項目可區分為(1)指定稻米品種之鑑定、(2)國內外稻米品種混合之鑑別及(3)未知稻米品種之鑑定。

IV. 稻米品種鑑定技術之應用

稻米品種鑑定技術可以應用在哪些方面呢？由於稻米品種不同會影響稻米特性，對某些食品業者而言，所開發之米飯產品需要特殊品種之稻米才有最佳的效果，因此需要出較高的價格採購某些特殊品種稻米，對於花高價所採購之稻米，由於已經去殼處理，不易由外觀判斷，就須借助稻米品種鑑技術來判斷糧商提供稻米品種是否正確。對糧商而言，向農民收購之稻米價格會依品種不同而有不同，另外需供應下游廠

商所要求之稻米品種，因此糧商須清楚及妥善管理所收購稻米品種，此也可藉由稻米品種鑑定技術了解是否有混米情形及品種是否正確。對海關而言所進口之稻米是否為核可國家之稻米或走私稻米也須借助稻米品種鑑定技術之協助。對國內消費者而言，小包裝米價格差異很大，有些品種的米(如越光米等良質米)價格遠高於其他米，而對於花高價所購買的米是否為正確的品種，就有賴政府執行檢驗小包裝白米之標示是否正確及CAS良質米推動，而此也須靠稻米品種鑑定技術才能執行，才能保障良好的米種有較高的價格。此對國內稻米品種之研發者而言，所研發之米有良好的價格，受肯定，更能鼓勵士氣去研發更好的稻米品種，提高國內稻米品種及國際之競爭能力。

V. 「純正台灣米」活動之稻米品種鑑定

「純正台灣米」活動是農糧局為鼓勵廠商誠實標示及建立國人對國產良質米信心所辦之活動，活動期間是由94年7月至9月，經稻米品種鑑定合格之品項，由農糧署發給「純正台灣米」標籤，而消費者購買貼有「純正台灣米」標籤之小包裝米後，可將標籤寄回參加抽獎活動。整個活動共需抽驗220件樣品，由於在短時間內就需要鑑定大量的樣品，因此將稻米品種鑑定之鑑定依據所提供之背景資料區分成單一品種米及混米，如是混米則取十粒米以單一米粒抽取鑑定方式進行，結果與已知品系標準品比較，如十粒皆相同則判為正確，如有不同則判為不正確，將不同

者與稻米品種鑑定資料庫比對，如有相似的圖譜，則重新與可能品種標準品一起進行電泳比較，如相同則可判定所混入品種之品種名，如不同則再重新自稻米品種鑑定資料庫尋找可能品種，如無相似的圖譜，則判為未知品種；如是單一品種米則先取十粒米進行五粒米兩重複之鑑定試驗，與已知標準品比較如相同則判為正確，如不同而為純米者則比對資料與稻米品種鑑定資料庫比對，如有相似的圖譜，則重新與可能品種標準品一起進行電泳比較，如相同則判定稻米品種之品種名，如不同而為混米者則進入混米鑑定流程，如前所述。

「純正台灣米」活動稻米品種鑑定共分成四次，第一次初篩共有70個品項，經過鑑定後共有36個品項正確率為51.4%，分析此次結果，此次報名參加的品種以良質米為主，包括了台梗2號、台梗8號、台梗9號、台梗16號、台農71號、高雄139號、台中秌10號、越光等品種，另外尚有較新的品種台東30號及台南11號，其中以台梗9號品種參加最多(15個品項)，但正確率極低(13.3%)，高雄139號及台農71號品種同樣有11個品項參加，高雄139號正確率(90.9%)高於台農71號(72.7%)，台梗2號品種有10個品項參加正確率80%，台中秌10號品種及混兩種品種者皆有6個品項參加但全部不合格，越光有5個品項參加全部正確，台梗8號及台梗16號品種皆有兩個品項參加，台梗8號全對，台梗16號則有一個品項正確(50%)，台東30號及台南11號品種都僅

有一個品項參加，而台東30號正確而台南11號不正確。

初篩通過36個品項需再經過三次至市場採樣複篩，由於有些品項在市面上並無法買到三批不同製造日期的米，所以實際上總共抽驗了95件，分析複篩結果，參加三次複篩三次皆正確的有15個品項，而此15個品項稻米品種以越光、高雄139號最多(4個)，其次依序為台農71號(3個)、台梗2號(2個)、台梗9號(1個)與台梗16號(1個)，如果將此95件依品種分析，可知越光米檢驗13件台梗16號檢驗3件全都合格正確率100%，高雄139號檢驗23件有18件合格正確率78%，台梗9號檢驗4件有3件合格正確率75%，台梗2號檢驗21件有10件合格正確率48%，台農71號檢驗22件有12件合格正確率55%，TK8檢驗6件有2件合格正確率33%，台東30檢驗3件皆不合格正確率0%。

分析「純正台灣米」整個活動四次都正確的品項，比率最高的品種為越光(80%)，其他依序為TK16(50%)、KH139(36.4%)、TN71(27.3%)、TK2(20%)、TK9(6.6%)，另外TK8、TCS10、台東30及台南11沒有一個品項四次皆正確。

VI. 稻米品種鑑定技術之未來發展

由於洋菜膠電泳之解析度較差，在鑄膠不良或電泳環境控制不良時，易發生歪斜現像，雖然以組合式SSR引子PCR鑑定方法能大幅改善鑑定技術，但最理想狀況還是需要以毛細管

電泳儀器進行，才能更正確判斷及區分稻米品種，另外對廠商來說僅知道所購買的米含有什麼品種是不夠的，需要知道所混合稻米的比例，所以稻米品種鑑定之定量方法之開發也是迫切需要的。

參考資料

- 1.台灣米產銷及經營技術研討會，4月，台灣，台北。
- 2.Chen, X., Temnykh, S., Xu, Y., Cho, Y. G. and McCouch, S. R. 1997. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 95(4) : 553-567.
- 3.Federici, M. T., Vaughan, D., Tomooka, N., Kaga, A., Wang, X. W., Doi, K., Francis, M., Zorrilla, G. and Saldain, N. 2001. Analysis of Uruguayan weedy rice genetic diversity using AFLP molecular markers. *Electronic Journal of Biotechnology* 4(3) : 130-145.
- 4.Mackill, D. J. 1995. Classifying japonica rice cultivars with RAPD markers. *Crop Science* 35(3) : 889-894.
- 5.Ni, J., Colowit, P. M. and Mackill, D. J. 2002. Evaluation of genetic diversity in rice subspecies using microsatellite markers. *Crop Science* 42 : 601-607.
- 6.Qian, H. R., Zhuang, J. Y., Lin, H. X., Lu, J. and Zheng, K. L. 1995. Identification of a set of RFLP probes for subspecies differentiation in *Oryza sativa* L. *Theoretical and Applied Genetics* 90(6) : 878-884.
- 7.Singh, K. N., Nandi, R., Shanmugasundram, P., Sasasivam, S., Huang, N., Brar, D. S. and Khush, G. S. 1999. High-resolution DNA fingerprinting of Indian rice (*Oryza sativa* L.) varieties by amplified fragment length polymorphism. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46(5) : 427-433.
- 8.Zhang, Q., Saghai Maroof, M. A., Lu, T. Y. and Shen, B. Z. 1992. Genetic diversity and differentiation of indica and japonica rice detected by RFLP analysis. *Theoretical and Applied Genetics* 83(4) : 495-499.
- 9.<http://210.69.25.145>

基因改造微生物所衍生食品之安全性評估簡介

生資中心／資深研究員兼副主任
朱文深

I.序言

“基因改造微生物 (recombinant-DNA Microorganisms)”係指遺傳物質以體外核酸技術(包括重組DNA技術與直接注射核酸入細胞或胞器之技術)改造之細菌、酵母菌或真菌，可用以生產但不限於優酪乳、乳酪、發酵香腸、納豆、泡菜、麵包、啤酒、葡萄酒等食品。一般以具有安全使用歷史之食品生產菌株經現代生物技術改造而得，但若以無安全使用歷史之菌株所建構之基因改造微生物則必須證明其安全性。基因改造微生物食品及食品配料可能含有活菌或死菌，亦可能為完成發酵後將菌體去除之食品。

基因改造微生物食品安全性評估之原則，是將基因改造微生物食品及基因改造微生物與其具有安全食用歷史之傳統對比食品與傳統對比微生物分別進行比較評估，並同時考量預期 (intended) 及非預期 (unintended) 效應。評估之目的是確認新的危害或危害改變之程度，而非試圖發掘與某一特定基因改造微生物食品或基因改造微生物相關之所有危害。

II.食品安全性評估

大部份利用微生物生產製造之食品皆具悠久之歷史，且早在以科學方法評估食品安全性之前就已經被認為是安全的。基因改造微生物之安全評估應提供相關食品用微生物之資料、基因改造微生物或用以建構基因改造微生物之宿主菌株不具已知病原菌特性及已知危害性之資料。

雖然安全性評估之焦點為基因改造微生物，但是基因改造微生物對食品成分之交互影響也需以實質等同之概念 (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Derived from Biotechnology, 2000; the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Derived from Biotechnology, 2001) 納入考量。實質等同之概念本身並非安全性評估，而是架構基因改造微生物(或食品)與傳統對照微生物(或食品)之間，發掘相似與相異處，進行安全性評估之起點。

(一)利用動物模式評估毒理作用

以動物模式評估化學物質的毒理作用是合適的，但是無法

很容易地應用在與食品相關之風險評估，因為食品是複雜的混合物，又不能以遠高於預期人體之暴露量進行動物試驗。因此，必須發展重點式跨領域的方法如利用實質等同之概念，考量預期效應、基因改造之本質以及可能發生於基因改造微生物或其衍生食品之可偵測的非預期效應，進行有效之安全性評估。

(二)非預期效應

研發人員可藉由添加、取代、移除或重排特定之DNA序列而賦予微生物特定標的性狀，但在某些情況下微生物會表現出非預期之其他性狀或喪失原有之性狀。非預期效應並不限於體外核酸技術，是一種固有且普遍的現象，會發生在利用傳統突變，或是處於篩選壓力下之菌株。

源於基因改造之非預期效應可分為可預料的與無法預料的效應。因為對微生物基因組與生理的認知，以及重組DNA技術相較於其他基因操作技術在所導入DNA之功能方面具有較高之特異性，對於某一特定之基因改造所造成之非預期效應的預測變得比較容易，而分子生物與生化技術也可用以分析會導致非預期效應之轉錄及轉譯層次的改變。

III.食品安全性評估之架構

基因改造微生物食品之安全性評估包括：基因改造微生物與基因提供生物之描述；宿主微生物之描述及其在食品生產之用途；基因改造包括載體 (vector) 及重組體 (construct) 之

描述；描述基因改造之特性；表現物質 (expressed substances) 潛在毒性及其他與病原性相關性質之評估、關鍵成份之組成分析、代謝物之評估、食品加工之效應、免疫效應之評估、基因改造微生物在人體腸胃道之活性與定殖性之評估、抗生素抗性及基因轉移及營養變異 (nutritional modification)等，分述如下：

(一) 基因改造微生物之描述

必須提供基因改造微生物菌株及其衍生食品之描述，且必須保存該菌株(最好是存於菌種中心)，並以分子方法進行適當鑑定。

(二) 基因提供生物之描述及宿主微生物與其在食品生產之用途

必須提供宿主微生物與基因提供生物(或中介生物)之全面描述，會產生毒素、抗生素或不該存在食品中之物質，以及基因組含有會導致遺傳不穩定性之遺傳物質、抗生素抗性基因或會賦予病源性相關功能之基因 (即 pathogenicity islands 或 virulence factors)之微生物不宜作為宿主微生物。必備之試驗數據及資料包括

- (A) 身份 (identity)：學名 (scientific name)、俗名 (common name)、菌株代號 (strain designation)；菌株及其出處之資料；
- (B) 使用及培養之記錄、已知的菌株開發資料(突變歷程或其前身菌株)；尤其是說明有無可能危害人體健康之性狀；
- (C) 與安全性相關之基因型及表現型資料；

- (D) 於食品生產或食用之安全使用歷史；
- (E) 相關生產參數資料。

(三) 基因改造之描述，包括載體及重組體

- (A) 基因改造之具體方法；
- (B) 用以改造微生物之DNA的資料，包括來源、特性及在基因改造微生物體內預期之功能，以及在質體上之套數；
- (C) 中介生物。

(四) 描述基因改造之特性

為充分了解基因改造對基因改造微生物本身之DNA，及基因改造對基因改造微生物食品之組成及安全性之影響，須對基因改造進行全面之分子及生化的特性探討，提供

- (A) 所添加、嵌入、刪除或改變遺傳物質之特性，包括用以轉移標的基因之質體或其他載體DNA；
- (B) 嵌入位置之數目；每一嵌入位置之DNA的結構；
- (C) 確認任何位於嵌入DNA或源於基因組或質體嵌入位置相鄰之DNA的改變所形成之開放讀碼區；及
- (D) 涉及任何已知的具潛在危害作用或會影響危害作用表現之序列。

其他尚需提供基因改造微生物體內任何新表現物質之資料，包括：

- (A) 基因產物資料(如蛋白質或未轉譯之RNA)、功能或其他資料；
- (B) 新性狀之表現型描述；
- (C) 基因產物於基因改造微生物

中之表現位置；

- (D) 欲表現之序列/基因之功能是改變某一特定之信息RNA或某一特定蛋白質的含量的資料；
- (E) 若是使某基因失活或改變與基因產物相關之代謝物，則提供該基因沒有表現產物，或基因產物相關之代謝物改變情形的資料。

(五) 安全性評估

安全性評估應依據基因改造之本質及程度以個案方式處理。若對基因改造微生物衍生食品之特性描述顯示可用之試驗數據不足時，可考慮以經過適當設計之動物或體外試驗來評估。

1. 表現物質：潛在毒性及其他與病源性相關特性之評估

當基因改造微生物所表現之物質從未被用於食品或食品加工時，須考量其在食品中之功能及濃度。測定留存於基因改造微生物食品中之活菌數，並與傳統對比食品中之活菌數比較。

若基因改造微生物所表現之物質為蛋白質，或尚未被安全食用之非蛋白質類物質，其潛在毒性之評估應考量蛋白質之結構及功能，並將該蛋白質與已知之蛋白質毒素及抗營養因子(如蛋白質分解酵素抑制劑、鐵載體 [siderophores])之胺基酸序列相似度、對熱或加工之穩定性、對適當具代表性之腸胃道消化模式系統之穩定性列為評估重點。

2. 關鍵成份之組成分析

主要營養素或主要抗營養因子是特定食品中可能對整體膳

食有具體影響之組成份，如脂肪、蛋白質、碳水化合物、酵素抑制劑，或礦物質、維生素等微量化合物。主要毒物是已知由微生物產生之毒性物質。

基因改造微生物食品關鍵成份之組成分析，應與在相同條件下所生產之傳統對比食品的關鍵成份之組成分析做比較，任何差異之統計意義應以該參數之自然變異予以評估以決定其生理重要性。

3.代謝物之評估

某些微生物經基因改造後可能會含有新代謝物，或使代謝物之含量改變。此種變異可能會改變混合菌群中各菌株之數量，或使有害微生物增加，或蓄積有害物質。

4.食品加工之效應

考量食品加工後對內生性毒性物質的熱安定性或重要營養素之生物可利用性在加工後可能會有所改變，應提供食品加工的條件。

5.免疫效應之評估

食品中存活之基因改造微生物，可能會與腸胃道之免疫系統反應，目前尚無可用以預測人體對某一新表現蛋白質之過敏反應的可靠試驗方法，因此需依下列方法評估新表現蛋白質潛在之過敏誘發性，以判定其是否為食品過敏原：

(1)蛋白質過敏誘發性之評估策略

需先確定新表現蛋白質之來源、與已知過敏原之胺基酸序列相似度、結構特性，再以證據權重之方法 (a weight of evidence approach) 比較新表現蛋白質與已知過敏原之胺基酸

序列及部分物理化學特性，判定新表現蛋白質基因是否會引發過敏反應。

(2)初始評估 (initial Assessment)

A.蛋白質來源

應提供包括篩選用血清之取得性、過敏反應之類型、嚴重性及頻率、蛋白質結構特性及胺基酸序列、由過敏源而來之已知過敏性蛋白質的物化及免疫特性，作為評估基因改造微生物食品之安全性的部分數據。

B.胺基酸序列同源性

使用FASTA 或BLASTP搜尋所有新表現蛋白質與所有已知過敏原之胺基酸序列同源性，以評估新表現蛋白質與已知過敏原結構相似之程度，判定是否會引發過敏。若序列比對結果為陰性，表示此新表現蛋白質並非已知過敏原；若為陽性，則可能是過敏原，需以對此過敏原有反應之個體之血清進行進一步之評估。

C.胃蛋白酶抗性

已知數種食物過敏原能抵抗胃蛋白酶的分解，若新表現蛋白質對胃蛋白酶有抗性，就需進一步分析，判斷此新表現蛋白質為過敏原之可能性。

(3)特異血清篩選 (specific Serum Screening)

對來自已知過敏源生物之蛋白質或與已知過敏原序列具同源性之蛋白質，可利用足夠個體數目之血清進行免疫試驗。一般情況下，最少需要8個相關血清以達99%確定新表現蛋白質不是主要過敏原，但若無法獲得足夠數量之血清供測試時，

應再進行皮膚測試及細胞或組織培養 (*ex vivo*) 試驗，陽性反應表示可能為過敏原 (The Joint FAO/WHO Expert Consultation, 2001)。

(4)其他

新表現蛋白質之絕對暴露量及相關食品之加工效應，亦是影響人體健康潛在風險評估結論之重要因素。

6.微生物於人體腸胃道成活力 (viability) 與定殖性 (residence) 之評估

以基因改造微生物生產之食品若含有活菌(如某些乳製品)，則基因改造微生物本身或其定殖性可能會影響人體腸道，有必要檢測該微生物在消化道之成活力(或定殖時間)，及其對人體腸道菌群之影響。

7.基因轉移及抗生素抗性

用於食品加工之傳統微生物菌株一般並未進行抗生素抗性之評估。若微生物菌株之抗生素抗性是由可傳送遺傳因子 (transmissible genetic elements) 所譯碼，則該菌株或可傳送遺傳因子會存於最終食品中，則此類菌株不可用來建構基因改造微生物。

8.營養變異 (nutritional modification)

應用現代生物技術改變微生物食品之營養素含量，會導致食品營養素組成之廣泛變化。在微生物體內所作之基因改造會改變其衍生食品之整體營養組成，進而影響食用者之營養狀態，因此必須評估會影響整體營養組成之改變所產生之影響。

IV. 基因改造微生物食品 安全性評估之檢討 (review of safety assessments)

綜上所述，基因改造微生物食品安全性評估的目標，是在考量食品營養含量或任何價值的改變對膳食的影響，以判定基因改造微生物食品是否與傳統對比食品同等安全。然而，當新的科學資訊顯示原有安全性評估的結論可能不正確時，應進行安全性評估的方式或項

目的檢討，期能有效的評估基因改造微生物食品之安全性。

參考文獻

1. International Life Science Institute. 1999. *The safety assessment of viable genetically modified microorganisms used as food.* Brussels Organization for Economic Co-operation and Development. 2006. *The OECD Guidelines for the Testing of Chemicals.*
2. The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Derived from Biotechnology. 2000. *Safety aspects of genetically modified plants.* Geneva, Switzerland.
3. The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Derived from Biotechnology. 2001. *Safety assessment of foods derived from genetically modified microorganisms.* Geneva, Switzerland.
4. The Joint FAO/WHO Expert Consultation. 2001. *The report on allergenicity of foods derived from biotechnology.* Rome, Italy.

基因改造小百科

1. 名詞釋義

(資料取自官方網站：行政院衛生處藥物食品檢驗局基因改造食品資訊網)

名詞：「實質等同」(Substantial Equivalence)

解釋：基因改造食品安全性評估是根據世界衛生組織(WHO)、聯合國糧食及農業組織(FAO)和經濟合作與發展組織(OECD)所認可的「實質等同」原則進行。這是一個安全評估策略，用以比較新發展的基因改造食品與傳統品種在食用安全及營養方面有甚麼共同和差異之處，藉此再作進一步評估。通常判定新基因改造食品與傳統食品的共同和差異之處，會比較以下各點：

A. 遺傳表現型特性：

- ◎ 在植物方面：包括形態、生長、產量及疾病抗性等；
- ◎ 在微生物方面：包括分類學特性、傳染性、抗生素抗性型式等；
- ◎ 在動物方面：包括形態、生長、生理機能、繁殖、產量等。

B. 組成成分比較：食品中的重要組成分之比較，主要是依關鍵營養素及毒物之認定，關鍵營養素為脂肪、蛋白質、碳水化合物、礦物質及維生素。

經過上述的比對而認定是實質等同，則該種食品或其成分即可視為與傳統品種同樣安全，反之，若發現兩者之間有差異，則需進行評估和動物試驗。

2. 國內基因改造官方網站

網站名稱：行政院衛生署藥物食品檢驗局基因改造食品資訊網

網址：<http://gmo.doh.gov.tw/Web/#>

網站名稱：行政院農業委員會動植物防疫檢疫局基因改造產品資訊網

網址：<http://140.112.89.47/jsp/home.jsp>

新DNA定序技術發展趨向快速且低價的定序

生資中心／副研究員
陳慧屏

由於近年來大量的生物陸續被解碼，因而尋找省時且低成本的定序方式成為主要的課題之一。在2005年Nature雜誌中刊載一篇有關於利用皮升(picolitre)級的反應器進行定序方法的文章，它將定序的速度又往前推進了100倍，甚於現今常用的桑格定序技術(Sanger sequencing technology)。

此由美國454 Life Sciences公司研究人員發明的定序技術，是以焦磷酸鹽(pyrophosphate)測序法為基礎的定序原理，是以可靠的化學反應及簡單又耐用之偵測系統可免用凝膠、染劑或特殊標記而進行即時定序分析。Pyrosequencing使用酵素連鎖反應系統，包含四種酵素及特殊受質，當核甘酸與DNA模板序列嵌插配對時會產生光。此光源訊號經過偵測、記錄後可即再加入下一個核甘酸。如果加入之核甘酸無法與模板之下一個序列配對，光就無法產生。此稱為“454”的方法如此之快，主要是由於其自動化的原因。整個過程，從最初的DNA片段複製到測序，皆採用微流技術(micorfluidic technologies)，加上不需要在細菌進行亞克隆或者處理單個克隆，整個測序回應都是批量進

行的，而且可以同時分析數以千計的DNA分子。相較而言，Sanger測序則要在每個步驟上花費許多時間，並在排序上需要分幾步來完成，而且研究者們必須在不同的測序階段間移動DNA。焦磷酸鹽測序法可以在4小時內測出2千5百萬個鹼基，其準確率可達到99%。利用Sanger毛細管電泳法測序平均每個小時可讀6萬7千個鹼基，平均準確率為99.4%。

德克薩斯州休斯敦市貝拉醫學院基因組測序中心的負責人Richard Gibbs和454公司顧問團的一位成員表示，454公司設計的基因測序機器避免Sanger測序過程中細菌繁殖時中會出現的一些缺陷，例如部分DNA在細菌群落中的生長問題等。聖路易士市華盛頓大學醫學院基因組排序中心的負責人Elaine Mardis表示，454公司的基因測序機器也有缺點。例如，在讀取單基本代碼中冗長的重複訊息時會出現準確性方面的問題。Mardis認為，對於分析較短的基因組或序列時這種機器是最佳選擇。“至少在短期內，沒有什麼技術能夠代替這種機器，”他說。“但是，將來設計者們將會增加更多的重要功能，使它能夠勝任更多的任務，”Mardis補充說。

於1990年提出的Human Genome Project (HGP)利用Sanger測序法花費了15年時間、數十億美元才完成了第一份人類基因組草圖。而“454生命科學”公司的技術估計以1萬美元的成本，在100多天內就能繪製出一個人基因組中的約30億個鹼基對。

美國454 Life Sciences公司主席Rothberg指出利用454技術，在100天內即可測完人類30億的鹼基。目前已經有幾個基因序列測試中心購買了454公司這一序列讀取機器。科學家們曾利用這一技術在一天內完成了對腺病毒基因組的測序工作。最近在研究治療肺結核的藥物時，科學家們也使用了這種方法來對引起肺結核的細菌進行了基因組排序。並且隨著這一過程越來越快，基因組測序也會越來越便宜，在幾年之後，也許只需要\$10,000了。此技術操作簡單，結果準確可靠，可應用於SNP位點檢測、細菌和病毒分型等領域。

參考文獻

- Margulies M, Egholm M, Altman WE, Attiya S, and Rothberg JM. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*. 2005, Sep 15;437(7057):376-80.
- <http://www.biotech.org.cn/news/news/show.php?id=25695>
- <http://www.genengnews.com/current/article.aspx?cat=Feature%20Articles&id=658>

從大腸桿菌中輕鬆地抽取重組蛋白

生資中心／副研究員
吳文蓉

在抽取大腸桿菌中的重組蛋白時，首先需藉由外力破壞大腸桿菌的細胞壁才能釋放出胞內的重組蛋白。傳統蛋白抽取方法通常是以機械式如超音波、剪力或高壓衝擊等形式來打破細胞，這類型的設備有超音波破碎機(sonicator)、旋轉均質機(homogenizer)、細胞破碎儀(FRENCH Press)等。使用傳統機械式設備破碎細胞時，因為會有熱能產生，所以需要在冰上間歇操作以加速熱能轉換，待大腸桿菌破碎後再以高速離心去除不可溶的細胞碎片，澄清液中的重組蛋白再藉由適合的樹脂系統純化到所需要的重組蛋白。傳統蛋白抽取實驗操作吵雜又費時，並且所得到的重組蛋白很容易因為熱或氧化造成變性或降解。

隨著生物科技技術的發展，新的試藥組套陸續推出，目前市面上已經有許多非機械式的蛋白抽取試藥組套，像是Genlantis公司的SuloLyse™、Novagen公司的Bugbuster™、Sigma-Aldrich公司的CelLytic™、Promega公司的FastBreak™、Fisher Scientific公司的B-PER™…等眾多產品，可以避免傳統細胞裂解操作導致的蛋白特性破壞，只需一步處理就可

以從大腸桿菌溫和地破碎細胞壁進而釋放可溶性蛋白，而蛋白卻不會被熱和氧化破壞，同時完成核酸消化消除黏度，實驗操作方式簡單快速同時所得到的蛋白產量皆高於傳統的細胞裂解法。

目前市售的蛋白抽取試劑的專利配方大致類似，主要成分為非離子性的界面活性劑如alkylglycoside或alkylthioglycoside，此類型的界面活性劑能溫和地破壞大腸桿菌細胞壁並保留蛋白質的活性；另外試劑內添加些鹽類如TRIS、phosphate buffers、HEPES作為緩衝溶液；細胞破裂後由於染色體釋放，抽取物黏度較高，試藥組套中添加的benzonase能從蛋白溶液中有效降低黏度和去除核酸；而抗氧化劑和protease抑制劑則能提高與保留蛋白活性。各家的蛋白抽取方法也大致類似，以SuloLyse™為例，將離心收集的大腸桿菌懸浮於SuloLyse試劑中，於室溫震盪輕搖10分鐘後，細胞即可破碎完全，離心去除不可溶的細胞碎片，上清液即為高純度的重組蛋白溶液。澄清的抽取物可直接用在GST或6×His的樹脂純化系統，將蛋白結合到親和樹脂上後，

過量的SuloLyse試劑可用合適緩沖液從柱子上去除，便可輕鬆得到純化蛋白。在表達不可溶蛋白時，先以SuloLyse試劑將大腸桿菌破碎後離心，沈澱物續以SoluLyse試劑和lysozyme處理5分鐘，去除殘餘的細胞碎片，再以稀釋20倍的SoluLyse試劑清洗沈澱物，便能得到高純度包涵體。

目前市售的蛋白抽取試劑種類繁多，可以依照實驗需求選擇適合的試藥組套。但不論是哪家的產品，除了皆能省去傳統超音波法破碎大腸桿菌的繁複過程，同時因為避免了機械破碎操作產生的熱與氧化對重組蛋白的破壞，因此所得到的蛋白產量及活性也都較傳統的超音波法高。

參考資料

- Method for Recovery of Proteins Prepared by Recombinant DNA Procedures Ruiyin Chu and A. Krishna Mallia U. S. Patent 6,174,704 B1 (2001)
- http://www.genlantis.com/commerce/catalog/product.jsp?product_id=1621&category_id=1319

DrugBank：一個用來作藥物開發與探索的整合性電子資料庫

(<http://redpoll.pharmacy.ualberta.ca/drugbank/>)

生資中心／副研究員
王富亞

在1980年以前，大部分的藥物相關資訊，包括藥物機轉與藥物受體(drug receptors)等資料，只存放在少數的百科全書裡。直至今日，基因序列、蛋白質序列與化學結構全都已經是電子化的資料了，但這半個世紀以來所大量累積的藥物作用標的與藥物化學資料，卻沒有妥善對應至相關的序列資料與化學結構資料。

最近愈來愈多的資料庫進行資料整合工作，克服了部分上述的資訊斷層。例如 Therapeutic Target Database (TTD, <http://xin.cz3.nus.edu.sg/group/cjtt/ttd.asp>)就是一個例子，其所收錄一千一百筆以上的小分子藥物與藥物標的資料可以連結至相關的蛋白質。除了TTD之外，許多小分子資料庫也陸續出現，例如 KEGG、ChEBI與 PubChem(<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)。這些資料庫都收錄了數千筆的小分子藥物資料，也都提供了俗名、別名(synonyms)、圖片以及化學結構資料。但可惜的是，這三個資料庫當初並不是為藥物開發者所設計的，因此並沒有提供藥劑資訊與藥物標的。再者這些資料庫所提供的資訊是概要的，所以也沒有提供藥物結構與藥物標的(蛋白質)序列。

DrugBank資料庫就是基於以上理由，為達到多重目標應運而生的。DrugBank資料庫結合了生物資訊(bioinformatics)與化學資訊(cheminformatics)，並且非常著重量化分析(quantitative analytic)以及藥物與藥物標的的分子微觀資訊(molecular-scale information)。它收錄了非常豐富的分子生理活性、也

收藏了其它資料庫收藏的序列(Swiss-Prot and UniProt)，並將這些資訊與豐富的藥物化學資訊結合起來。

DrugBank的建置計畫(Canada's national genomics strategy)是由非營利性組織Genome Alberta & Genome Canada所完成的，經費來自加拿大政府機構所斥資的六億加幣，因此這個資料庫的服務是完全免費的。目前資料庫收錄了四千一百筆以上的藥物資料，對應了超過一萬兩千筆以上的商品名以及別名。其中包括了八百筆以上的FDA認證藥物，三千兩百筆以上的實驗藥物，一萬四千筆以上的藥物標的蛋白與標的序列。

DrugBank將每一筆藥物相關資料彙整成一個稱為DrugCard(表1)的電子化表格，每一筆DrugCard紀錄了八十個以上不同科學領域的資料，一半的資料屬於化學與藥物相關的資料，另一半屬於藥物標的蛋白或序列資料。在資料檢索的部

分，網頁上提供了六種查詢介面：Browse(一般字串檢索)、PharmaBrowse(藥劑資訊檢索)、ChemQuery(化學結構繪製檢索)、TextQuery(DrugCard全文檢索)、SeqSearch(序列BLAST檢索)以及Data Extractor(自訂條件交叉檢索)。只要是非商業用途，DrugBank更提供了所有序列資料、化學結構資料以及DrugCard資料的下載。

DrugBank是一個跨領域的免費網路資源，它結合了化學、物理、藥劑學與分子生物學，並收錄了數千筆經詳細研究的藥物與藥物標的。DrugBank所提供的詳細分子資料，能促進藥物開發與藥物探索，其中包含了各種物性資料、結構資料與影像檔、藥劑與藥理資料、數千筆的藥品及其生理活性與藥物標的。它所提供的非會員制服務，對於藥劑研究者、教育學者、學生、臨床醫師以及一般大眾來說都是極有助益的資源。

參考文獻

1. Nucleic Acids Research, 2006, Vol. 34, Database issue.
doi:10.1093/nar/gkj067, D668D672.
2. Rebhan, M., Chalifa-Caspi, V., Prilusky, J. and Lancet, D. (1998). GeneCards: a novel functional genomics compendium with automated data mining and query reformulation support. Bioinformatics, 14, 656664.
3. DrugBank website: <http://redpoll.pharmacy.ualberta.ca/drugbank/>

表1、DrugCard之資料形式總覽

Drug or compound information	Drug target or receptor information
Generic name	Target name
Brand name(s)/synonyms	Target synonyms
IUPAC name	Target protein sequence
Chemical structure/sequence	Target no. of residues
Chemical formula	Target molecular weight
PubChem/KEGG/ChEBI Links	Target pI
Swiss-Prot/GenBank Links	Target gene ontology
FDA/MSDS/RxList Links	Target general function
Molecular weight	Target specific function
Melting point	Target pathways
Water solubility	Target reactions
pKa or pI	Target Pfam domains
LogP or hydrophobicity	Target signal sequences
NMR/MS spectra	Target transmembrane regions
MOL/SDF/PDF text files	Target essentiality
MOL/PDB image files	Target GenBank protein ID
SMILES string	Target Swiss-Prot ID
Indication	Target PDB ID
Pharmacology	Target cellular location
Mechanism of action	Target DNA sequence
Biotransformation/absorption	Target chromosome location
Patient/physician information	Target locus
Metabolizing enzymes	Target SNPs/mutations

審定公告之專利寄存生物材料

資料範圍自95年7月至95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
生產抗人類B型肝炎病毒表面抗原單株抗體之融合瘤細胞株、該單株抗體、以及以該單株抗體檢測B型肝炎病毒之套組/ I256306	融合瘤細胞株2B2 融合瘤細胞株4H6 融合瘤細胞株5D1 融合瘤細胞株5D7 融合瘤細胞株5F6 融合瘤細胞株5F7 融合瘤細胞株6F6 融合瘤細胞株8D12 融合瘤細胞株8H7	960169 960170 960171 960172 960173 960174 960175 960176 960177	財團法人生物技術開發中心
核酸之增幅方法 / I257426	質體pAFU204(於大腸桿菌JM109內)	940366	寶生物股份有限公司(日本)
具殺蟲劑活性之鏈黴菌株及其用作殺蟲劑之方法 / I257951	鮮黃鏈黴菌(<i>Streptomyces galbus</i>)	910169	阿瓜奎斯公司(美國)
可分解有機高分子化合物與環境賀爾蒙化合物的菌株 / I258505	<i>Pseudomonas putida</i> TX2	910232	國立中央大學
酸安定性枯草桿菌蛋白酶於動物飼料之用途 / I259759	<i>Aspergillus</i> sp. CBS 102448 <i>Paecilomyces lilacinus</i>	930047 930048	D S M 智慧財產公司(荷蘭)
豬內源性反轉錄病毒殼蛋白之單株抗體及其用途 / I260347	融合瘤細胞株PERV GAG-5A11	960194	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67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：王俐婷、高宜廷、王富亞

詹馥菱、郭秋媚

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

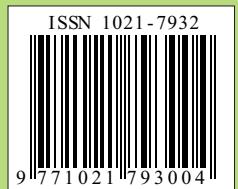
承印：彥光打字印刷商行

電話：(03)530-1116

ISSN:1021-7932

GPN:2009001214

ISSN 1021-7932



9 771021 793004