

財團法人食品工業發展研究所

第 69 期

生物資源保存及研究簡訊

第20卷第1期

中華民國96年4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

- ◎ 行政院院列管計畫查證小組蒞臨本所生物資源保存及研究中心查訪「生物資源之創新加值與開發應用四年計畫」執行成果

研發成果 2

- ◎ 生物產業之創新資源—微生物新種
- ◎ 建立專案保存(Special Collection)服務系統
- ◎ 建立分子篩選平台加值微生物資源

知識專欄 8

- ◎ 真菌多樣性及其於環境污染物降解之應用

專利微生物 12

- ◎ 審定公告之專利寄存生物材料

中心公告 12

行政院院列管計畫查證小組蒞臨本所生物資源保存及研究中心查訪「生物資源之創新加值與開發應用四年計畫」執行成果



▲ 本所廖啓成副所長陪同審查委員實地查證，訪視研發成果展示。

(圖：生資中心 田桂娥 小姐提供)



▲ 審查委員視察本所生物資源保存及研究中心研發之自動化凍乾外管拉管機。(圖：生資中心 田桂娥 小姐提供)

九十五年度政府科技發展由院列管計畫審查作業，委由行政院國家科學委員會前往執行單位進行實地審查。查證小組楊順聰委員、李世仁委員、陳鈴津委員、游汝謙委員及主管機關經濟部技術處長官，於今年2月5日蒞臨計畫執行單位食品所生物資源保存及研究中心，查訪經濟部技術處補助之「生物資源之創新加值與開發應用四年計畫」，在本所劉廷英所長致詞歡迎後，首先聽取計畫主持人廖啓成副所長簡報說明計畫執行成果，隨後在廖副所長的陪同下訪視研發成果展示與核心設施。

本所生物資源保存及研究中心為持續改善我國生技研發大環境以提升我國生技產業之競爭力，利用本土多樣性生物資源及核心設施與技術所累積的能量為基礎，結合創新的思維執行「生物資源之創新加值與開發應用四年計畫」，本期程計畫之主要成果包含：(1)多樣化之技術服務，包含生物資源分譲、新興產品品質檢驗與產業用微生物資源之鑑定與服務平台；(2)生物資源流通管理之服務平台；(3)產業服務導向之生物資訊e平台；(4)生物產業之創新資源微生物新種；(5)Special Collection專案保存服務系統；(6)分子篩選平台加值微生物資源；(7)人類胚幹細胞之引進/公開提供；(8)間葉幹細胞之開發；(9)幹細胞無血清培養系統之開發；(10)醋酸菌及其纖維素之創新應用；(11)微生物類保健配料，包含酵母菌、光合菌、乳酸菌；(12)微生物高分子素材之開發應用；(13)多樣化發酵庫之建構與應用等，將在本年度的「生物資源保存及研究簡訊」中做一系列的報導。

(文：生資中心 劉桂郁 研究員)

生物產業之創新資源 — 微生物新種

生資中心／研究員
劉桂郁

I. 前言

人類對於微生物的利用已有悠久的歷史，從早期釀酒與發酵食品的製造開始，到現在應用範圍已擴及食品、農業、環保、能源、化工及醫藥等產業，我們大量利用微生物製造食品、維生素、酵素、抗生素、殺蟲劑及藥物等，並運用於廢棄物的處理及生質能源的開發，微生物對人類而言可說是提供了全方位的服務。

二十一世紀全球將邁入生物經濟的時代，相對於資訊經濟，生物經濟對資源的依賴性特別強，微生物資源更是扮演了舉足輕重的角色；然而近年來國際間微生物資源的流通愈趨嚴格，為了因應生物經濟時代的來臨而佈局，本土微生物資源的探索與開發實為當務之急。

II. 台灣特有的微生物資源是國家發展生物經濟的機會與優勢

台灣獨特的地理與氣候，孕育了驚人的豐富物種，雖然台灣陸地僅佔全球萬分之2.5，但依據「台灣生物多樣性資訊網」的統計，目前台灣已知的物種數已達全球2.6%（至96年2月24日）。而生物多樣性已成為

目前最受矚目的經濟資源，多樣化的微生物資源可以產生潛力不可限量的生物活性物質，從台灣尚未被發掘的微生物多樣性，我們可以找到新的物種和基因，將是生命科學與生物技術研發創新的泉源，資源多樣性的特色透過生物科技可以轉化為可觀的商業價值，因此台灣特有的微生物資源正是國家發展生物經濟的優勢與機會。

本中心成立至今已建構微生物資源之長期保存與系統化管

理的平台，並逐步建立與國際同步之分類鑑定技術，多年來持續提供產學研各界豐富且高品質之微生物資源及資訊，以下將說明本中心於92年至95年間執行「生物資源之創新加值與開發應用四年計畫」中，本土微生物資源探索現階段的成果。

III. 本中心致力於本土新穎性微生物資源之探索

相較於歐、美、日等先進國家，台灣的微生物資源尚未有長期全面之系統性調查及收集保存，鑑於本土醫藥及生技產業對於新穎性微生物資源殷切的需求，本中心本期程計畫以原有的微生物資源收集保存技術平台為基礎，加強本土特殊環境微生物的探索，透過計畫的執行，採集特殊環境的樣

表1、92年至95年生物資源中心(BCRC/FIRDI)執行「生物資源之創新加值與開發應用四年計畫」發表新種之期刊論文

期 刊	年份;卷期;頁數	題 目
Int. J. Syst. Evol. Micro biol.	2006; 56 (8): 1771-1776.	<i>Chryseobacteriu m taiwanense</i> sp. nov., isolated from soil in Taiwan.
Int. J. Syst. Evol. Micro biol.	2006; 56: 1811-1815.	<i>Amycolatopsis taiwanensis</i> sp. nov., from soil.
J. Gen. Appl. Micro biol.	2005; 51 (1): 41-46.	<i>Sporobolomyces fushanensis</i> sp. nov., a new species of ballistoconidium-forming yeast in the <i>Microbotryum</i> lineage isolated from a plant in Taiwan.
J. Gen. Appl. Micro biol.	2005; 51 (5): 277-286.	<i>Sporobolomyces diospyroris</i> sp. nov., <i>Sporobolomyces lophatheri</i> sp. nov. and <i>Sporobolomyces pyrrosiae</i> sp. nov., three new species of ballistoconidium-forming yeasts in the <i>Agaricostilbum</i> lineage isolated from plants in Taiwan.
Int. J. Syst. Evol. Micro biol.	2004; 54: 1387-1391.	<i>Chitinibacter tainanensis</i> gen. nov., sp. nov., a novel chitin-degrading aerobe from the soil in Taiwan.
Mycoscience	2004; 45: 287-294.	<i>Bullera begoniae</i> sp. nov. and <i>Bullera setariae</i> sp. nov., two new species of ballistoconidium-forming yeasts in the <i>Bullera varabilis</i> (<i>Bullerib asidium</i>) cluster isolated from plants in Taiwan.
System. Appl. Micro biol.	2004; 27: 558-564.	Two new ballistoconidium-forming yeast species, <i>Bullera melastomae</i> and <i>Bullera formosana</i> , found in Taiwan.
J. Gen. Appl. Micro biol.	2003; 49 (6): 337-344.	<i>Sporobolomyces magnisporus</i> sp. nov., a new yeast species in the <i>Erythrobasidium</i> cluster isolated from plants in Taiwan.

品，並建立新穎性微生物分離與培養的技術，為了避免微生物資源在生態環境變遷的衝擊下滅絕，收集之菌株進入專案保存(special collection)菌種庫進行系統化的管理，以保護國家珍貴的資源。未來也將結合發酵庫的建構與分子篩選平台做進一步的加值，產品研發的潛力是可以預期的，將可創造本土微生物資源的經濟價值，達到本土資源永續利用的目的。

此外本中心更運用多年來累積之核心技術對本土菌株進行歸群，對於新穎性的微生物進一步利用形態觀察、生理生化試驗、細胞組成化學分析、DNA定序與DNA雜交等技術，進行系統分類學的研究，本期程計畫共發現了一個微生物新屬及十二個新種，並且分別依據「國際細菌命名法規」及「國際植物命名法規」命名發表(表1)，這些新穎性的微生物資源彰顯了台灣微生物資源的多樣性；預期在產業利用方面，新穎性的微生物資源將可提供創新的素材，在智慧財產權的保護之下發展差異化的產品，強化本土產業的競爭優勢。

IV. 未來展望

未來本中心將擴大本土微生物資源探索的範疇，預期有更多新的物種或台灣特有種被發現，透過整合性的加值系統將可有效發掘資源的經濟價值，並進一步串連發酵工程技術和製程產品的開發，將資源的科學價值轉化為產業價值，使得本土產業在生物經濟的潮流之中可以掌握利基。

建立專案保存 (Special Collection) 服務系統

生資中心／研究員
謝松源

微生物被發現迄今已有三百餘年，其間人類憑藉智慧開發應用微生物，發掘其潛力，來幫助改善生活。近年來隨著現代發酵工業之興起及近代遺傳工程之發展，人類更有效率地利用微生物。目前微生物已被廣泛應用於醫藥相關疾病研究、抗生素篩選、食品工業發酵、環境汙染防治、農業生技，基因工程等許多方面，為人類帶來極大的福祉，因此微生物已被視為重要的生物資源。然而，這個資源我們究竟開發了多少？以藥物開發為例，據統計美國有13%的處方藥源自微生物，市面上使用的抗生素有85%來自真菌中的子囊菌(含其無性世代之不完全菌)，但估計已被發掘的真菌有用二次代謝產物尚少於1%。顯示微生物待開發之潛力極大。

微生物研究中，菌種保存已成一件重要課題，許多微生物菌種已被證實極具應用潛力，但良好的菌種保存方可確保其永續利用。一般研究微生物的實驗室常須面對菌株保存的問題，至少於實驗進行中須保持研究菌株具良好活性，對於重要菌株更須妥善保存以供後續研究使用並應寄存於具規模的菌種中心，以確保未來其可以

被取得。一般微生物實驗室維持微生物菌株存活受限於經費設備，經常僅採用繼代培養或低溫保存的方式，鮮少採用凍乾或液態氮超低溫冷凍保存等較佳保存方式。由於繼代培養或低溫保存經常遭遇菌株性狀改變及活性變差等問題，另外受限於人力及空間因素，一般研究微生物之實驗室，其菌株保存數量規模無法達太大。因此僅保留當時主要研究菌株，許多菌株因此而丟棄，甚至重要菌株亦常因疏忽而造成存活不良或性狀變異，有些則於特定研究結束後丟棄，殊為可惜。尤其隨著生物技術及生技產業進展，菌株除存活外，其活性及穩定性之維持更顯重要。本中心是國內最具規模的菌種中心，主要任務之一為收集保存各類微生物、細胞、基因等生物資源，提供包括公開寄存、秘密寄存、專利寄存等寄存方式，目前已保存15000株微生物資源，主要保存方法包括凍乾、-80°C 低溫保存及液態氮超低溫冷凍保存等方法，除針對微生物類型分別提供最佳保存方法，並同時採用數種長期可靠的保存方式，以確保菌株之形態、生理及遺傳性狀的妥善保存。

雖然微生物極具開發潛力，目前微生物應用開發之篩選平臺相當多樣，快速篩選平台亦發展成熟，但篩選樣品來源不足是發展的一個主要問題。在另一方面，當微生物研究人員進行不論是基礎或應用性研究時，大多於研究過程中經常產生大量分離株，分離株中除對研究主要目的具重要成果的菌株外，其餘絕大部份分離株通常會被丟棄。這些花費研究人員精力產生之分離株中多數未經仔細鑑定，但仍具有相當多樣性，或者具生態專一性，甚至有新種存在的可能，並且對其他研究者而言未必容易取得，故可考慮成為其他研究篩選所需之菌種資源庫。為因應

產業界及學界兩者之需求，考慮將具潛力之分離株進行保存以擴大生物資源數量並供生技產業發展大量菌株篩選之需求，為互謀其利的解決之道。

本中心目前建立之專案保存模式，是以特定環境分離出具有價值或有潛力但未經詳細鑑定之分離菌株為目標，以簡化之長期保存流程進行有系統收存，以擴大本中心現有之生物資源收藏，並可提供作為篩選研發之用。目前專案保存菌株總計已有2000株(如表1)，來源包括外部寄存及內部收集兩部份。外部寄存主要為專案徵求，目前包括越南VTCC菌種中心贈送及台灣本土酵母菌等共

有1000株已完成保存，內部收集部份為食品所研究計畫衍生之有價值分離株、突變株、轉型株及特殊環境菌株等，包括乳酸菌、溫泉高溫放線菌、類酵母、特殊環境分離真菌及紅麴菌變異株等計有1000株亦已完成保存。專案保存目的為提供產業用篩選菌種資源庫，目前保存完成的菌株中已有500餘株被使用於篩選研究，包括篩選胞外多醣、蛋白分解酵素及其抑制食品病原菌之能力，篩選生物活性物質，發酵庫建置等方面，未來專案保存將可提供外界研發，以協助國內生技產業發展為目標。

表1、本中心已完成保存之專案保存菌株數量及類別

菌株類別	來源	菌株數量	小計
細菌	藍錠染料 各類乳酸菌(發酵食品、醬瓜、禽鳥糞便等)	50 200	250
酵母菌	森林土壤、海洋、植物、其他	800	800
真菌	越南VTCC菌種中心贈送 類酵母真菌 污水真菌 耐滲透壓真菌 海洋	200 200 130 30 40	600
放線菌	高溫環境-溫泉、森林土壤	50	50
真菌變異株	紅麴菌 <i>Monascus</i> 突變株	300	300
總計		2000	2000

建立分子篩選平台加值微生物資源

生資中心／研究員
劉大維

I. 前言

從天然物尋求藥理成分來防治人類的疾病，一直是醫藥界研究的一個主要方向，由上個世紀迄今，科學家已從各類天然物中找到不少抗病及保健的物質，而許多是來自於微生物，自抗生素的探勘開發到statin類降膽固醇藥物的發現，皆顯示微生物豐富的二次代謝物是開發藥物的寶庫。多年來，國內產學研各界也積極投入天然物及代謝物庫的研究，致力於植物萃取物及微生物發酵成分之開發。每年許多天然化合物在大學或研究單位被純化鑑定，然而國內仍然欠缺完善的天然物功效評估系統，以致許多獨特的天然成分在純化分離後，從未能經過整體性的生理功效評估。雖然國內目前已有數種功能篩選平台可對天然物及化合物進行功效篩選，技術分別存於各個研究單位及學校，仍未整合。做為國內主要的微生物資源收集保存及研究單位，本中心正建立一套篩選流程，有系統的對生物資源、天然物、甚至是合成化合物進行功效篩選評估，以充分

探勘這些資源的應用潛力(圖1)。

本中心對天然資源產物的生理功效分析，迄今經歷了多個階段的發展，由最初的篩選抗微生物的抗生素類物質，及抗氧化的活性分析，進而加入抑制癌細胞生長的特性分析。及至90年代分子生物及細胞內訊息傳導知識的快速進展及累積，對多種困擾人類的疾病病因在分子層面已逐漸了解，使得對特定疾病的分子篩選機制得以逐漸被開發，本中心已規劃引進或建立多樣的分子篩選平台，探勘微生物資源在疾病治療或生理功能調節方面的潛力，本中心功能篩選方面的開發項目將分述於後。

II. 微生物資源之功效篩選－傳統篩選項目

本中心對微生物代謝物常規進行的功能分析項目包括抗細菌、抗真菌、抗氧化等功效。抗菌及抗真菌等功效分析是以抑菌圈實驗(Agar Diffusion Assay)來進行初篩工作，抑菌圈實驗是藉由agar plate上水分的作用，試樣上的可能抗菌物

質溶解到agar中，殺死周圍的微生物，從而在agar上形成一透明抑菌圈；透明圈的大小表示抑菌的效果。此法一般被用來測試微生物對抗生素的抗性，但亦可反過來用以測試特定化合物是否具有抑制微生物生長的效果。抑菌圈試驗的執行方法有(1.)杯碟法Well Test (2.)濾紙片法Disc Diffusion (3.)點種法Spot Inoculation。所選用的方式一般會根據微生物的生長特性來進行選擇。

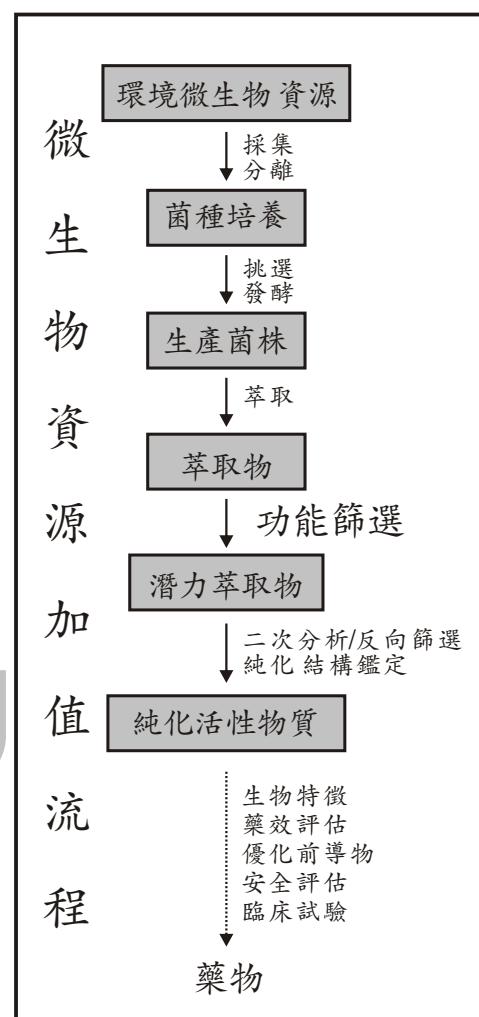


圖1、本中心微生物資源加值流程圖

在抗氧化的分析方面，抗氧化物質在化學結構上會具有清除自由基、螯合金屬離子、提供電子或氫原子等機制與能力，使其具有清除DPPH自由基、螯合亞鐵離子、清除超氧化陰離子或還原力等功能，因此也開發了多種抗氧化的分析方法，本中心進行抗氧化能力測試，一般會進行四種主要的測定抗氧化能力之方法，以充分評估樣本在各方面的抗氧化能力。

III. 微生物資源之功效篩選－對特定疾病標的之分子篩選

在後基因體時代，基因體序列的解碼已將生命科學研究推入全新領域。在疾病與各種生理功能調控上所參與的基因及蛋白質，在基因體解碼後以超越以往的速度被研究者釐清，探討疾病的治療邁入基因體的時代。著眼點不再只是症狀的緩解，而是釜底抽薪的處理由疾病生成的根源。而在人類邁入高齡化社會後，除了惡性腫瘤，退化性疾病逐漸成為醫界面對的主要課題，現代人對生活品質的要求也更甚於以往，在長壽外也希望在中老年能維持良好的身體機能，因此探勘生理功效的研發方向，癌症防治與體內荷爾蒙的調控便成為開發重點。

在癌症治療的研發，美國自1950年代即開始大規模針對抗

癌物質的篩選，初期的篩選策略是以動物癌症活體試驗為主，在1990年開始採用培養的人類癌細胞株，來測試化合物對癌症的療效，靠是否抑制癌細胞生長的特性進行篩選，本中心已挑選數株代表性的癌細胞株進行培養，對生物資源進行篩選工作，包含肝癌、乳癌、子宮頸癌、及胃癌等。近年來，癌症的防治逐漸不再僅以是否能殺死癌細胞為指標，由於對於癌症致病機制的深入瞭解，癌細胞由發生到成長的過程中許多訊息傳導機制已被發現，眾多的癌症相關蛋白質、相關的基因及其突變陸續被深入研究，而勾勒出癌症發生的病因。自2000年起，美國癌症研究中心(NCI)著手開發針對癌症分子機制的藥物篩選策略，成為現今抗癌成份開發的新領域。本中心也引進了抗癌篩選平台，目前已建立 β -catenin / TCF4轉錄蛋白活性分析平台，上述轉錄蛋白的異常活化，往往造成細胞持續分裂而產生癌症，已證實與多種癌症的產生直接相關，如直腸癌、肝炎、乳癌等，因此本篩選平台以冷光蛋白為報告基因，來監測轉錄蛋白的活性，若化合物可以抑制此轉錄蛋白的活性，造成冷光強度的降低，即具有抑制癌症的潛力。

荷爾蒙功能的調節，進而調控身體的眾多功能，也是篩選平台開發的主要方向，目前本中心已鎖定以人類荷爾蒙核內

受體為標的，開發一系列核受體活性的篩選平台，涵蓋主要的荷爾蒙調控生理活性。目前已經建立雄性荷爾蒙受體、腎上腺皮脂素受體、及黃體素受體的活性篩選平台，也都是利用細胞中表現冷光基因來進行分析，將待測荷爾蒙受體所關連的Hormone Response Element (HRE)接上冷光報告基因，轉殖至帶有該受體的細胞株中，冷光報告基因強度即反應核內受體的活性，此細胞株即可用來對受測化合物或天然物進行篩選(圖2)。本中心已規劃建立的核受體平台如表1。

IV. 未來展望

探索微生物資源的科學價值，開發資源的經濟價值，進而創造產業效益，是生物資源研究的目標。本中心已針對台灣生技產業中長期需求，積極收集具有應用潛力的新穎性生物資源進行研發。在資源開發方面，中長程規劃擬建立多種醫藥用之生物資源發酵庫，亦另由本土特有微生物中，純化分離新穎天然物以建構化合物庫，可提供予相關業者；在資源加值的評估策略上，除整合原有的傳統分析技術，如抗細菌、抗真菌、抗氧化等功效之外，亦對特定的生理功能與疾病標的建立專一性的分析技術，整合並規劃出一個系統性的生物資源初篩評估流程。

95年度起針對特定活性標的

引進或建立新的篩選平台，以具高專一性的分子標的來建構分析系統，已完成四項癌症相關篩選平台之建立，包括 β -catenin / TCF4 轉錄蛋白活性之分析篩選平台、分析雄性荷爾蒙受體活性、腎上腺皮脂素受體活性、及黃體素受體活性等篩選平台，並著手對本中心之資源庫進行篩選，亦提供對外篩選服務，期能協助國內產學研各界，充分探勘生物資源的開發價值。

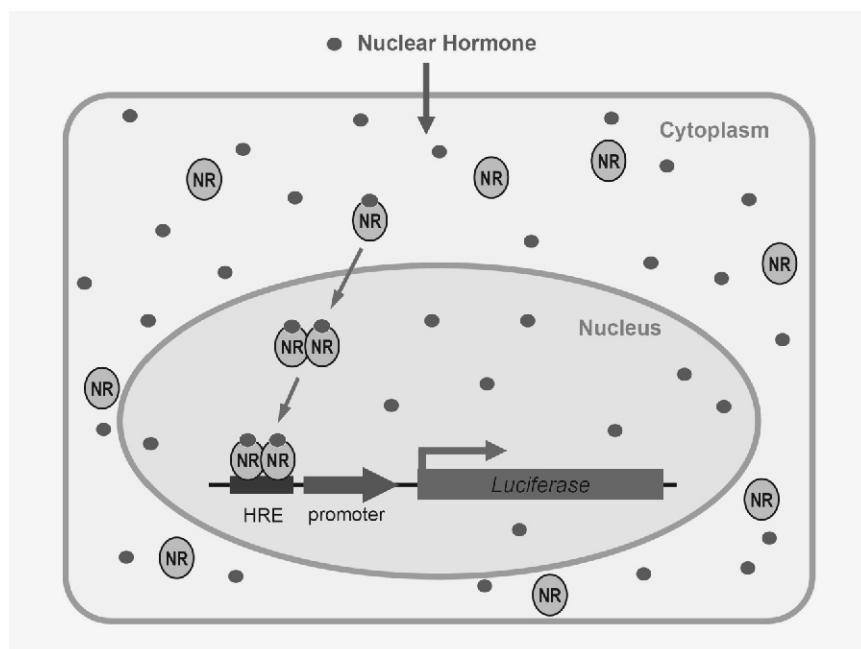


圖2、以冷光報告基因篩選可調控核內受體之活性物質。

* NR-Nuclear Receptor, HRE-Hormone Response Element

表1、本中心核受體活性篩選平台建置規劃

核內受體活性 篩選平台名稱	相關功能與疾病	篩選平台 預計建置時程
AR (Androgen Receptor)	雄性荷爾蒙受體，與前列腺癌的發生與移轉相關	95
GR (Glucocorticoid Receptor)	腎上腺皮質激素受體。參與免疫反應、血糖利用，發炎反應、抗壓的調節等生理功能	96
PR (Progesterone Receptor)	黃體素受體。調控子宮內膜發育，受精卵著床，乳房表皮細胞成熟等。為開發墮胎藥及治療子宮肌瘤、子宮內膜組織異位、乳癌等之標的	96
ER (Estrogen Receptor)	雌性荷爾蒙受體。與乳癌防治，及停經後骨質疏鬆及心血管疾病等防治有關	97
MR (Mineralocorticoid Receptor)	礦物皮質酮受體。控制鹽類恆定與血壓，此途徑異常易形成心血管與腎臟的疾病	97
PPAR (Peroxisome Proliferator-activated Receptor)	為脂肪酸之受體，篩選肥胖相關代謝疾病，如高血脂、糖尿病、心血管疾病之潛力成份	98
TR (Thyroid Hormone Receptor)	甲狀腺荷爾蒙受體，甲狀腺素調控人體新陳代謝，其失調與眾多慢性新陳代謝疾病相關	98
RAR (Retinoid Acid Receptor)	維生素A酸受體。與細胞增生、凋亡、分化、生殖、維持細胞正常功能相關。與其他類固醇受體協同作用，參與多種功能調控	99

真菌多樣性及其於環境污染物降解之應用

生資中心／副研究員
沈育維

環境污染物的生物降解之真菌類微生物做一整理。

II. 真菌的多樣性與其降解機制

不同的環境由於氣候、土壤、濕度等不同地理因子的變化下，使得生物體為適應不同的環境而衍生出許多不同的物種，即是所謂的生物多樣性。而生物的多樣性遠超過我們想像，尤其真菌並不像動植物等高等生物可明顯的由外觀來辨識其種類，通常肉眼無法發現而需藉由顯微鏡才可觀察到，在已被確認的種類中，事實上僅占自然界中存在的極少部分而已。目前約有72000種的真菌已被命名，其中約有13500種與藻類及地衣有關，且每年仍以700至1500個新種的速度在增加。

微生物降解的機制大致分為二種，一是微生物藉由礦化過程將污染物質分解藉以獲取生長所需的能量與碳源；另外也可能經由共代謝降解作用(*cometabolism*)，將污染物質轉化為酚類、酸類等最終產物。共代謝降解作用是指有些污染物(非生長基質)不能作為微生物的惟一碳源和能源，其降解並不能引起微生物的生長和能量的產生，它們只是在微生物利用生長基質時，被微生物所產生的酵素降解，或是污染物在轉化為成CO₂和H₂O的過程中有多少種酵素或微生物參與。

真菌降解污染物的機制，大多與木質素分解的相關酵素有關。木質素分解真菌無法利用木質素作為單一的碳源，它還必須依靠木質纖維素中其他可分解的多醣作為能量的來源，木質素分解的主要功用通常在

I. 前言

1946年，Claude E. Zoobell (*Atlas et al. 1981*) 探討了微生物在石油混和物或其他污染物質的環境下對碳氫化合物的利用情形，此即是早期生物降解的概念。與傳統的物理或化學的方式處理污染廢棄物相較，生物降解程序一般具有較安全與節能的優點，可將有毒的污染物分解為無毒或對環境不具危害的化合物，且並不會像化學處理般在程序中產生另一個污染物質的問題，這樣的程序將廣泛的取代過去處理環境污染的方式。

而微生物處理污染物質的程序，可利用微生物本身或者所產生之酵素進行降解。當使用微生物本身進行降解時，通常需考慮微生物能否在實驗室以外，較為多變且嚴苛的污染環境中生長與代謝，因此一般認為由較極端環境而來的微生物較為適合，如來自海邊環境之微生物，因為微生物在此環境存活時需忍受低溫、高溫、高鹽、乾燥及潮濕等差異相當大的環境；另外，為了使菌種具備分解特殊污染物的功能，在實驗室亦常使用基因工程的方式來改良菌種，但這可能衍生另外兩個問題，一是基因轉質菌株在環境的適應上可能較

差，另一則為其對生態是否會造成影響，因此在應用上限制較多。

另一個生物降解的方式，為將微生物所產生的酵素分離出來，做為污染物質轉換使用之生物觸媒，與全細胞系統相較，酵素系統較為簡單，同時也可降解大部分外源毒素(xenobiotics)，如多環芳香烴化合物、有機氯農藥、漂白、染料工業廢水等，而其中較重要的為篩選出能夠分解污染物質的微生物，並且分離出相關的酵素，目前應用在生物降解的酵素多為氧化酶、還原酶、去氫酶或木質素分解的相關酵素，如白腐菌產生的漆酶、錳過氧化酶等。以生物轉換的方式來降解有毒物質，通常較全細胞程序或化學程序產生較少有毒副產物，同時也可利用基因重組的方式在生長較快的宿主中生產以降低成本，但相對的酵素在環境中缺乏細胞的保護亦可能喪失活性。而要使用哪種方式來進行生物降解的程序，則需考慮污染物與環境中菌相的分佈。但不管如何，隨著更多新的菌種及功能的發現，生物降解已廣泛的應用在不同的環境污染物中，而這些能在高毒性物質，或者高溫高壓的環境中完成污染物質之分解的微生物或生物觸媒也正說明了微生物在環境中存在的多樣性。本文將特別針對應用於

使真菌的纖維酶或半纖維酶更容易分解暴露出的多醣。這些木質素分解系統隨著真菌種類的不同，而產生不同種類的胞外酵素，但大致都包含在木質素過氧化酶 (Lip)、錳過氧化物酶 (Mnp) 與漆酶 (laccase) 等三群酵素之中，而這些酵素通常不受污染物溶解性和毒性的限制，在催化氧化反應時能氧化分解多種具芳香結構的有機物染物。

III. 利用真菌降解環境污染物

(一) 多環芳香烴化合物

多環芳香烴化合物通常為石化燃料不完全燃燒、汽車排放或工業生產所產生，由於其具高毒性、生物難降解且高度親脂性，因而容易累積與散佈土壤或水等生態中。目前已發現許多真菌具有礦化多環芳香烴化合物的能力。*Cunninghamella elegans* 為一種典型的土壤真菌，在早期的文獻中顯示其可氧化 benzo[a]pyrene、(±) 9,10-dihydrobenzo[a]pyrene、benz[a]anthracene 等多環芳香烴化合物；而後亦發現其可降解 6-nitrochrysene、6-nitrobenzo[a]pyrene、3-nitrofluoranthene、2-nitrofluorene 等多種多環芳香烴化合物。Moody (2004) 等人與 Stingley (2004) 等人將 *C. elegans* 於含 1-nitropyrene 的培養基中培養，隨著培養時間的增加所得的培養液基因致變活性逐漸下降。除了 *C. elegans* 外，*Cyclothyrium* sp.、*Penicillium simplicissimum* 與 *Psilocybe* sp. 也被發現可轉化 pyrene、anthracene、phenanthrene 與

benzo[a]pyrene。*Penicillium* sp.、*Trichoderma viride*、*Alternaria tenuis* 與 *Aspergillus terrus* 則可降解 phenanthrene。

另外，亦有許多文獻報導白腐菌具有降解多樣外源毒素的能力，包括多環芳香烴化合物、合成染料、木材防腐劑及農藥等，藉由白腐菌的共氧化作用，可將污染物非專一性的氧化為二氧化碳及其他極性的代謝物。白腐菌 *Phanerochaete chrysosporium* 的木質素代謝系統中，木質素過氧化酶 (Lip) 與錳過氧化物酶 (Mnp) 在降解 PAHs 的過程，佔有非常重要的角色，它們具有氧化 pyrene、anthracene、fluorene 與 benzo[a]pyrene 為相對應的奎寧類 (quinines) 化合物。另一個同屬菌株 *P. laevis* 同樣具有氧化 PAHs 的能力，氧化後產生大部分為極性的代謝產物，且速度及效率較 *P. chrysosporium* 為佳。其他的擔子菌，如 *Crinipellis stipitaria*、*stropharia coronilla*，白腐菌 *Berkandera* sp.、*Trametes versicolor*、*Kuehneromyces mutabilis*、*Lammulina velutipes*、*Laetiporus sulphureus*、*Agrocybe aegerita*、*Coriolopsis gallica*、*Pleurotus ostreatus* 與部分不完全菌 (Deuteromycetes) 同樣能代謝 PAHs。而這些真菌之中，有些僅能產生少量的木質素過氧化酶 (Lip) 與錳過氧化物酶 (Mnp)，其靠白腐菌或非木質素分解真菌的其他酵素系統來降解 PAHs。

(二) BTEX(Benzene-Toluene-ethylbenzene-xlenes)

BTEX 為石油碳氫化合物

苯、甲苯、乙苯和二甲苯之簡稱，過去的研究曾有利用 *P. chrysosporium* 來降解這類化合物，降解的過程通常不利用木質素分解的系統，培養過程在不含木質素的培養基中，也因此並不產生 Lip 與 Mnp。另外，*Cladophialophora* sp. 也被認為具有降解 BTEX 類化合物的能力，在含 BTEX 的培養基中培養，可利用單加氧酶 將甲苯、乙苯和二甲苯降解。Lovan (2002) 則研究了乙醇與 BTEX 化合物生物降解的關係，當乙醇濃度較低時，苯降解的效率增加，但當乙醇濃度高時，則會影響降解的速率，因此在汽油醇 (gasohol) 存在的污染區中，BTEX 降解的速度較慢。

(三) 氯酚 (Chlorophenol) 的降解

氯酚類的化合物主要包括 19 個不同含氯數的酚類化合物異構物與 pentachlorophenol (PCP)，為工業上重要的原料，常用於染料、防腐劑、殺蟲劑等化學品的生產，另外也有許多工業廢水如紡織、造紙工業等，均含有大量的氯酚類化合物。氯酚類化合物對生物組織具有較強的變性作用，強烈刺激皮膚、黏膜，並具有腐蝕性，其毒性隨其氯化程度的增加而增大，且較難降解。氯酚類化合物的生物降解較其他污染物更受到人們的重視，其生物轉換的主要反應為 O-烷基化反應 (O-methylation)，這類反應可經由許多種類的細菌或真菌所催化以降低氯酚類化合物的毒性，其中較重要的氯酚化合物為 2,4-二氯酚、2,4,5 與 2,4,6-三氯酚及五氯酚。

(1) 2,4-二氯酚 (2,4-Dichlorophenol)

2,4-二氯酚通常作為除草劑

2,4-dichlorophenoxyacetic acid的前驅物，可被多種真菌所降解。Ullah (2000) 以多種固態基質進行試驗，培養 *Coriolus versicolor* 生產胞外酵素以移除2,4-二氯酚，他們發現以麥麩為基質時，在培養30天後有最高的漆酶活性，且可移除100%的2,4-二氯酚。另外，由 *Trametes villosa* 而來的漆酶也分別以單獨酵素的型態及固定化的方式來移除土壤中的2,4-二氯酚，當土壤中含有2.8%的漆酶時，一天後可移除88%的2,4-二氯酚，14天後土壤中的2,4-二氯酚則完全消失。

(2)2,4,5與2,4,6-三氯酚(2,4,5與2,4,6-Trichlorophenol)

與2,4-二氯酚相同，2,4,6-三氯酚為合成除草劑的前驅物。Leontievsky (2000) 等發現，2,4,5與2,4,6-三氯酚會對 *Coriolus versicolor* 與 *Panus tigrinus* 的生長有抑制效果，但儘管如此，*Panus tigrinus* 以固體基質培養二個月後，仍可降低三氯酚80至90%的毒性。Leontievsky (2001) 也比較了漆酶單獨使用及固定化方式對三氯酚降解的影響，水溶性的漆酶在pH5.0、20°C的環境下，3小時可百分之百移除400ppm的三氯酚；而固定化後的漆酶則可在pH7.0、50°C的環境下，10分鐘即可移除相同濃度的三氯酚。Leontievsky (2002) 亦利用 *Panus tigrinus* 以餵料的方式進行高濃度的生物降解，在三週可完全轉化500mg/L的2,4,6-三氯酚。

(3)五氯酚(Pentachlorophenol，PCP)

五氯酚常被用來作為木材防

腐劑、真菌細菌殺菌劑、除草劑與殺蟲劑等。*P. chrysosporium*、*P. sordida*、*Irpe lacteus*、*Bjerkandera adusta*與 *Trametes versicolor* 等菌株可利用生物補強(bioaugmentation)的方式將污染土壤中的五氯酚移除。*Irpe lacteus*、*Bjerkandera adusta*與 *Trametes versicolor* 可分別移除86%、82%與90%的五氯酚，其中只有小部分的五氯酚轉化為pentachloroanisole (PCA)。*P. chrysosporium*、*P. sordida* 則分別移除85%、92%的五氯酚，但卻大部分轉化為PCA。不同的菌株其降解的機制差異頗大。在液態培養中，利用 *P. sordida* 矿化PCP明顯優於 *P. chrysosporium*；而在土壤中 *P. chrysosporium* 則較 *P. sordida* 更容易降解PCP(96%與82%)

(四)殺蟲劑

殺蟲劑的使用亦會造成環境的污染，在土壤表面或地下水均可發現殺蟲劑的殘留物，這些殺蟲劑大多是含有機氯的化合物，在1940年代開始便有大量的有機氯殺蟲劑如DDT、lindane、aldrins等被製造與使用，另外有機氯的除草劑2,4-dichlorophenoxyacetic acid、2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T) 與 2-methyl-4,6-dichlorophenoxyacetic acid (MCPA) 則可能造成戴奧辛的產生與污染，這些有機氯化合物會持續存在在環境中，並藉著食物鏈擴散並累積在生物體內造成危害。

DDT降解速度極慢，除了部分細菌可藉由礦化作用降解DDT外，白腐菌也被發現具有礦化DDT及其他殺蟲劑的能

力，如 *P. chrysosporium* 可降解methoxychlor ethane 產生數種代謝產物，*P. ostreatus* 與 *Phellinus weiri* 也可礦化13.5%的DDT。Bending(2002)比較了九種白腐菌降解單芳香環殺蟲劑的能力，結果發現 *Coriolus versicolor*、*Hypoholoma fasciculare* 與 *Strereum hirsutum* 降解的效率最佳。對Diuron、atrazine、terbutylazine 等殺蟲劑的降解效率在42天時可達86%。Castillo (2001) 則對白腐菌中，木質素代謝系統所產生的酵素對降解除草劑isoproturon的影響作一探討，在固態發酵的過程中，*P. chrysosporium* 在培養14天後，可降解91%的isoproturon，且木質素過氧化酶(Lip)與錳過氧化物酶(Mnp)產生最大活性的時間恰與isoproturon濃度下降最快的時間相吻合。Torstensoon (2000) 以生物床的方式，利用 *P. chrysosporium* 降解isoproturon，將 *P. chrysosporium* 接種於生物床中，28天isoproturon可減少78%，100天後更可減少99%。*P. chrysosporium*可降解多種的殺蟲劑，以液態或固態培養的方式培養 *P. chrysosporium*，30天後可代謝9.4%的lindane與23.4%的chlordan。另一種除草劑 bentazon 也可利用 *P. chrysosporium* 進行降解，在小規模的固態發酵試驗中有很好的降解效果，在氮源濃度低時，降解速率很快，約80-150 μg/day，但當氮源濃度提高至12.5與25mM時，降解速率下降至16-17 μg/day。而bentazon降解速率的快慢同樣跟錳過氧化物酶(Mnp)活性相關，但只有MnP(含Mn2+與過氧化氫)存在

時並不能氧化bentazon，加入介面活性劑Tween80後才可緩慢的氧化bentazon。與MnP相較，LiP氧化bentazon的速率則較快，較適合直接以酵素的方式進行生物降解程序。真菌殺蟲劑cyprodinil在腐植酸(humic acid)或酚類化合物作為中介者(mediator)的情況下，可被*Trametes villosa*產生的漆酶所轉化。其他非木質素分解的真菌同樣具有降解殺蟲劑的能力，如*Botrytis cinerea*、*Sordaria superba*與*Absidia fusca*，其可在培養5天後降解超過50%的殺蟲劑。

IV. 結語

近年來，環境污染的問題受到人們高度的重視，而利用生物降解的方式來移除環境中的有毒物質則一直是努力的方向，但實際上以真菌或其所產生的酵素來進行大規模的環境生物復育仍在少數，因此最重要的課題仍是如何將實驗室中的結果真正應用在實際的環境中。而目前部分的實驗室成果顯示，在某些條件之下，無論是木質分解真菌或非木質分解真菌均可有效率的降解高度毒性且複雜的有機污染物，這些結果應與環境中的菌群、溫度、濕度、pH值等變數相互考量，才可有利於實際之應用。而環境遺傳資源的開發、極端環境中微生物資源的探索以篩選能降解有毒物質的菌種或酵素，配合基因工程等現代生物技術的開發，將可更擴大生物降解應用的範圍。

六、參考文獻

1. Alcalde, M., Ferrer, M., Plou, F.J., and Ballesteros, A. 2006.

- Environmental biocatalysis: form remediation with enzymes to novel green processes. *Trends Biotechnol.* 24, 6, 281-286.
2. Atlas, R.M. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiol. Rev.* 45, 180-209.
3. Baldrian, P., in der Wiesche, C., Gabriel, J., Nerud, F.K., and Zadrazil, F. 2000. Influence of cadmium and mercury on activities of ligninolytic enzymes and degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pleurotus ostreatus*. *Soil. Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2471-2478.
4. Bending, G.D., Friloux, M., and Walker, A. 2002. Degradation of contrasting pesticides by white rot fungi and its relationship with ligninolytic potential. *FEMS Microbiol. Lett.* 212, 59-63.
5. Bollag, J.M., Chu, H., Rao, M.A., and Gianfreda, L. 2003. Enzymatic oxidative transformation of chlorophenol mixtures. *J. Environ. Quality* 32, 63-69.
6. Castillo, M., Anderson, A., P., Stenström, J., and Torstensoon, L. 2001. Establishment of the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* on unsterile straw in solid substrate fermentation systems intended for degradation of pesticides. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 17, 627-633.
7. Leontievsy, A.A., Myasoedova, N.M., Golovleva, L.A., Sedarati, M., and Evans, C.S. 2002. Adaptation of the whiterot basidiomycete *Panus tigrinus* for transformation of high concentrations of chlorophenols. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59, 599-604.
8. Leontievsy, A.A., Myasoedova, N.M., Baskunov, B.P., Evans, C.S., and Golovleva, L.A. 2000. Transformation of 2,4,6-trichlorophenol by the white rot fungi *Panus tigrinus* and *Coriolus versicolor*. *Biodegradation* 11, 331-340.
9. Leontievsy, A.A., Myasoedova, N.M., Baskunov, L.A., Bucke, G., and Evans, C.S. 2001. Transformation of 2,4,6-trichlorophenol by free and immobilized fungal laccase. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 85-91.
10. Lovanh, N., Hunt, C.S., and Alvarez, P.J. 2002. Effect of ethanol on BTEX biodegradation kinetics: Aerobic continuous culture experiments. *Water Res.* 36, 3739-3746.
11. Moody, J.D., Freeman, J.P., and Ceniglia, C.E. 2004. Degradation of benzo[a]pyrene by *Mycobacterium vanbaalenii PYR-1*. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 340-345.
12. Okerentugba, P.O., and Ezeronye, O.U. 2003. Petroleum degrading potential of single and mixed microbial cultures isolated from rivers and refinery effluent in Nigeria. *African J. Biotechnol.* 2, 88-292.
13. Parrish, F.W. 1977. Fungal transformation of 2,4-dinitrotoluene and 2,4,6-trinitrotoluene. *Appl. Environ. Microbiol.* 34, 232-233.
14. Paul, D. 2005. Assessing microbial diversity for bioremediation and environmental restoration. *Trends Biotechnol.* 23, 135-142.
15. Stingley, R.L., Khan, A.A., and Ceniglia, C.-E. 2004. Molecular characterization of phenanthrene degradation pathway in *Mycobacterium vanbaalenii PYR1*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 322, 133-146.
16. Torstensoon, L. 2000. Experiences of biobeds in practical use in Sweden. *Pesticide Outlook* 11, 206-211.
17. Ullah, M.A., Kadhim, H., Rastall, R.A., and Evans, C.S. 2000. Evaluation of solid substrates for enzyme production by *Coriolus versicolor*, for use in bioremediation of chlorophenols in aqueous effluents. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 54, 832-837.

審定公告之專利寄存生物材料

資料範圍自95年12月至96年3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
用以促進蘭科植物生長之肥料組合物/ I267499	絲核菌(<i>Rhizoctonia</i> sp.) Ma 絲核菌(<i>Rhizoctonia</i> sp.) Mb	930076 930077	國立台灣大學
古生菌型聚酯作為生醫材料應用/ I270376	<i>Halobacterium</i> strain H13	910151	國立中興大學
新穎戈登氏菌株及降解油類用途/ I270534	戈登氏菌屬(<i>Gordonia nitida</i>)CC-JG39	910234	國立成功大學
新穎紅城紅球菌株及降解油類之用途/ I270535	紅城紅球菌(<i>Rhodococcus erythropolis</i>)CC-BC11	910241	國立成功大學
殺生物蛋白質/ I270552	pTYB4-VrCRPÄSP(in <i>E. coli</i> BL21(DE3))	940327	中央研究院
異麥芽糖之製造方法及用途/ I273138	<i>Bacillus globisporus</i> C9 <i>Bacillus globisporus</i> C11	910171 910172	林原生物化學研究所股份有限公司(日本)

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。

中心公告

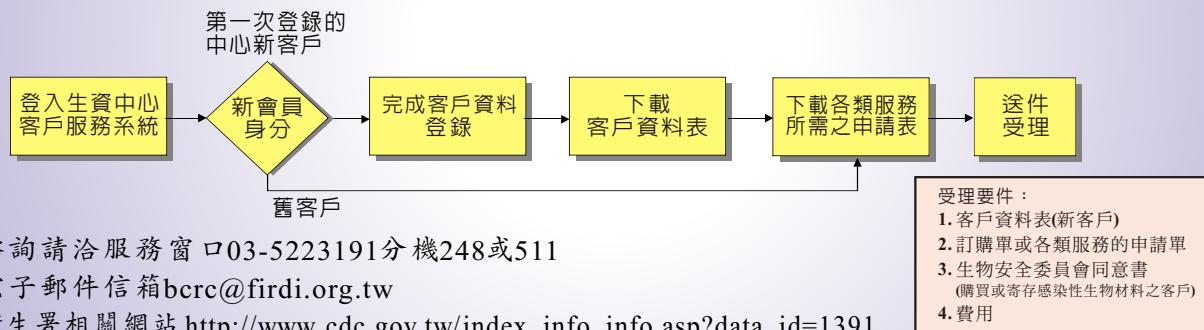
生物材料寄存提供之受理作業更動說明

●說明事項

依衛生署「感染性生物材料管理及傳染病病人檢體採檢辦法」規定，第二級以上感染性生物材料新增、寄存或分讓等異動情事時，應經授與及接收單位雙方生物安全委員會之同意。

故即日起生資中心客戶購買、寄存感染性生物材料時，應出具所屬機構之生物安全委員會同意書。

本中心生物材料之生物安全等級，請進入網站首頁「生物資源資料庫」查詢。



生物資源保存及研究簡訊 第69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：劉桂郁、黃麗娜

王培銘、姚少凌

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

