



財團法人 食品工業發展研究所

第 73 期

生物資源保存及研究簡訊

第 21 卷第 1 期

中華民國 97 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

◎ 本所生資中心副主任黃效民博士前往日本理化研究所生物資源中心參訪

研發成果 2

◎ 新技術
以 *gyrB* 基因序列分析鑑別產業用枯草桿菌群之學名
◎ 新資源

知識專欄 5

◎ *gyrB* 基因於細菌分類上的應用
◎ 類酵母真菌 *Pseudozyma* 屬之應用

中心公告 11

微生物專利 12

本所生資中心黃效民博士參訪日本理化研究所生物資源中心，建立雙方生物資源流通之合作機制



▲ 理化研究所生物資源中心參訪合照。前排坐者，左邊為陽明大學吳榮燦教授，右邊為理化研究所生物資源中心主任小幡裕一博士。站立者由左而右分別為企劃室片桐健博士、蔡培倫、洪琳雅、黃效民、細胞庫負責人中村幸夫博士、實驗動物負責人吉木淳博士、遺傳工程負責人小倉淳郎博士。 (圖：生資中心 黃效民博士提供)

本中心黃效民副主任與陽明大學生物藥學研究所吳榮燦教授於 2/12 參訪日本理化研究所(RIKEN, The Institute of Physics and Chemistry Research)位於筑波之生物資源中心(BioResource Center, BRC)。RIKEN BRC 成立於 2001 年一月，共有正式之員工為 88 位，2007 年之經費為 24 億日元，相當於台幣 7 億元，中心主任為小幡裕一(Dr. Yuichi Obata)，其下包括有六個生物資源單位(實驗動物、實驗植物、細胞、微生物、基因、資訊)、一個資源工程單位(提供對外服務，類似於本所生資中心之窗口服務)，另外含有二個團隊從事細胞動力學和訊息傳遞研究。細胞材料開發實驗室室長為 Dr. Yukio Nakamura (中村幸夫)為 M.D., Ph.D.，為此行主要之請益對象，目前 RIKEN BRC 細胞資源部門或簡稱為細胞庫，就是指此單位，該細胞庫除了一般腫瘤細胞株之保存提供外，有二大特色為其他國際細胞庫所沒有者：一為提供研究用臍帶血，另一為收集 EBV 轉形之人類血液細胞株。微生物材料開發室就是眾所熟知的 JCM (Japan Collection of Microorganisms)，目前由 Dr. Yoshimi Benno 擔任室長。

本次參訪達成數項合作議題，其中最重要是 RIKEN BRC 期望本所可以成為負責該單位生物資源輸出入之台灣窗口，包括微生物、細胞、DNA 等，日後台灣研究人員向理化研究所之訂購，均可由本所統一處理，除了減少研究人員因訂購作業和入海關程序不熟悉而失敗之困擾，研究人員更因共同分擔運費而降低總費用，利用本中心所建立之生物資源流通管理服務平臺，以專業服務結合客製化，並引進具有產業利用性之生物資源，以支援產業發展共創生物經濟時代的優勢。

(文：生資中心 黃效民博士)



▲ 理化研究所生物資源中心 細胞庫

新技術

以 *gyrB* 基因序列分析鑑別產業用枯草桿菌群之學名

生資中心 / 研究員
王俐婷

芽孢桿菌屬 (*Bacillus*) 細菌為革蘭氏陽性、產芽孢、嗜氧性、醣類代謝具發酵性之大型桿菌，普遍存在於土壤及植物體表等環境。本屬細菌的部份菌種如枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)，可產生對植物病原微生物或有害昆蟲具有毒害作用之抗生物質，在生物防治深具應用潛力；有些菌種如 *B. subtilis*、*Bacillus licheniformis*、*Bacillus amyloliquefaciens* 等可以產生黏蛋白、黏多醣、酵素、胺基酸或維生素等有用物質，其生理功能廣受重視和產業應用。而保健食品納豆菌為有效發表學名 *Bacillus subtilis* 菌種之一。

B. subtilis 在 1999 年根據基因序列和 DNA 的相似性而被區分成兩個亞種，*Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* 和 *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*，與 *B. licheniformis*、*B. amyloliquefaciens*、*Bacillus atrophaeus*、*Bacillus mojavensis*、*Bacillus vallismortis*、*Bacillus sonorensis* 以及 *Bacillus tequilensis* 等形成一群類緣關係非常相近的菌群，稱之為枯草桿菌群 (*Bacillus subtilis* group)。這些菌種對糖類的代謝和生理生化反應等表現型特徵極為相近而難以區分，如 *B. atrophaeus* 只能根據色素的產生從枯草桿菌群中區分開來。*B. mojavensis* 和 *B. vallismortis* 二者只能根據脂肪酸組成的不同

而區分或分別從枯草桿菌群中區分開來。

以 16S rRNA 基因序列分析不同細菌物種之間的差異是近年來最常被採用的細菌分類鑑定方法，但有些類緣關係相近的菌種不僅形態特徵和生理生化特性相似，甚至 16S rRNA 基因序列相似性也很高。枯草桿菌群之 16S rRNA 基因序列具有很高的相似性 (98.1-99.8 %)，但 DNA-DNA 相似性清楚顯示他們的類緣關係 (11-67%)。

選擇具有某些高度保留性和足夠變異性的 protein-coding genes 或 housekeeping genes 進行基因序

列分析，藉以區別微生物種間與種內菌株間甚至不同族群間的差異和演化關係是近期發展和廣為應用的分類方法。*gyrB* 是參與 DNA 複製，轉錄，重組和修補等生化反應之 DNA 解旋酶 (DNA gyrase) 次單元體 B 蛋白質的基因，普遍存在於細菌體內。*gyrB* 屬於 protein-coding gene，不易受特殊生長環境影響發生突變，也不易產生水平轉位作用 (transferred horizontally)，序列演化速率比 16S rRNA 快，具有某種程度的高保守性和比 16S rRNA 稍微高的變異性。很多分類研究利用 *gyrB* 基因序列分析不同細菌族群如 *Aeromonas* 屬、*Mycobacterium* 屬、*Pseudomonas* 屬、*Bacillus antracis-cereus-thuringiensis* group 等之類緣關係，結果顯示 *gyrB* 基因序列可成功區別類緣關係相近菌種之種間與種內菌株間甚至不同族群間的差異，且區分能力明顯，可作為研究細菌演化和菌種分類鑑定之理想分子 (phylogenetic marker)。

生資中心接受菌種委託鑑定

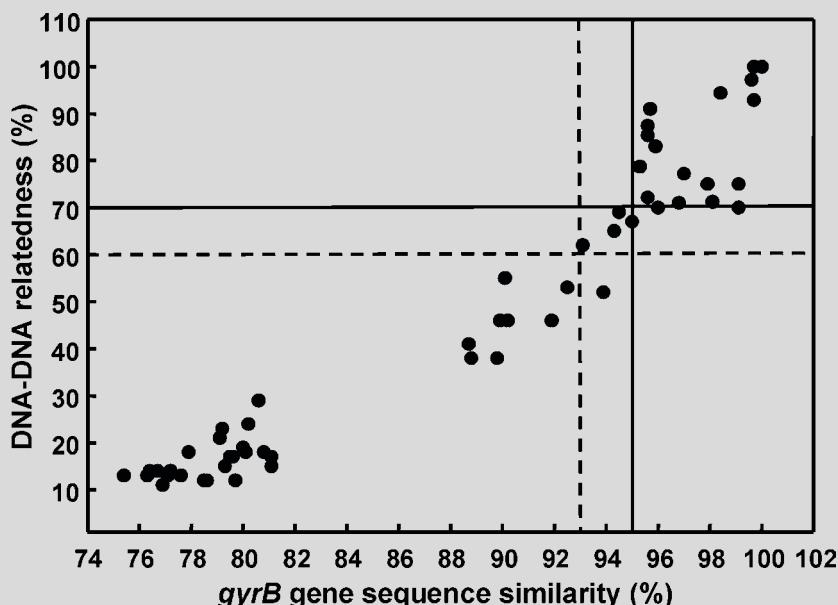


圖1、枯草菌群之 *gyrB* 基因序列相似性和 DNA-DNA相似性的直線關係。
實線顯示 95% *gyrB* 基因序列相似性相當於 70% 的 DNA 相似性；虛線顯示 93% *gyrB* 基因序列相似性相當於 60% 的 DNA 相似性。

業務中，屬於枯草桿菌群相關菌種的鑑定案件佔多數，足見這些菌種在產業上的應用價值和開發潛力。但是他們在分類鑑定上面臨不易正確鑑別之問題，造成產業應用、產品管理和菌種鑑定上的困擾，彰顯開發快速準確之菌種鑑定技術，將可協助菌種之開發和使用適當且正確之菌株 (strain) 的重要性。生資中心以 *gyrB* 基因序列分析發展枯草桿菌群之菌種鑑定技術，研究結果顯示此菌群之 *gyrB* 基因序列相似性 (75.4-95.0%) 與 DNA-DNA 相似性 (11-67%) 具有直線的正向關

係(圖一)，可準確呈現出此菌群之整體 DNA 相似性，並且達到準確快速鑑定枯草桿菌群學名之目的⁽¹⁾。*Bacillus axarquiensis*、*Bacillus malacitensis* 和 *Bacillus velezensis* 是近期發表，被歸類於枯草桿菌群的三個新種。經由 16S rRNA 和 *gyrB* 基因序列分析、DNA-DNA 雜交分析和生理生化反應等多項分類學方法，研究結果證明 *B. axarquiensis* 和 *B. malacitensis* 為 *B. mojavensis* 之同種異名 (synonym)，*B. velezensis* 為 *B. amyloliquefaciens* 之同種異名，釐清枯草桿菌群目前之分類

現況^(2,3)。

參考文獻

1. L. T. Wang, F. L. Lee, C. J. Tai, H. Kasai, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57, 1846 (2007).
2. L. T. Wang, F. L. Lee, C. J. Tai, A. Yokota, H. P. Kuo, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57, 1663 (2007).
3. L. T. Wang, F. L. Lee, C. J. Tai, H. P. Kuo, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58, 671 (2008).

新資源

生物資源保存及研究中心近期公開菌種累計 203 株，共計 74 屬 167 種，分別來自土壤、活性污泥、堆肥、溫泉、海洋、植物、動物（如海綿、貝類、昆蟲、蚯蚓）及食品等基質，其中，標準菌種 128 株，本土菌種 63 株，各菌株詳細資訊請上網查詢 <http://strain.bcrc.firdi.org.tw/BSAS/>。

菌名	BCRC 編號	菌名	BCRC 編號
<i>Acetobacter cibinongensis</i>	17735 ^T	<i>Halomonas janggokensis</i>	17796 ^T
<i>Acetobacter indonesiensis</i>	17736 ^T	<i>Halomonas magadiensis</i>	17783 ^T
<i>Acetobacter orientalis</i>	17737 ^T	<i>Halomonas meridiana</i>	17784 ^T
<i>Acetobacter syzygii</i>	17738 ^T	<i>Halomonas variabilis</i>	17786 ^T
<i>Acetobacter tropicalis</i>	17739 ^T	<i>Halomonas venusta</i>	17787 ^T
<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>ranae</i>	17768 ^T	<i>Isoptericola dokdonensis</i>	16880 ^T
<i>Alkalibacterium iburiense</i>	17791 ^T	<i>Isoptericola halotolerans</i>	16878 ^T
<i>Alkalibacterium psychrotolerans</i>	17792 ^T	<i>Isoptericola hypogaeus</i>	16879 ^T
<i>Alkalibacterium olivapovliticus</i>	17779 ^T	<i>Isoptericola variabilis</i>	16877 ^T
<i>Alteromonas simiduui</i>	17572 ^{T*}	<i>Jonesia quinghaiensis</i>	17756 ^T
<i>Alteromonas tagae</i>	17571 ^{T*}	<i>Kocuria carniphila</i>	17764 ^T
<i>Asaia bogorensis</i>	17740 ^T	<i>Kocuria marina</i>	17766 ^T
<i>Asaia krungthepensis</i>	17741 ^T	<i>Kocuria rhizophila</i>	17765 ^T
<i>Azospirillum doebereinerae</i>	17732 ^T	<i>Kozakia baliensis</i>	17744 ^T
<i>Bacillus isabeliae</i>	17837 ^T	<i>Labrys neptuniae</i>	17578 ^{T*}
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	17710 ^T	<i>Lactobacillus ultunensis</i>	17714 ^T
<i>Bacillus niabensis</i>	17829 ^T	<i>Lactobacillus acetotolerans</i>	17709 ^T
<i>Brachybacterium phenoliresistens</i>	17589 ^{T*}	<i>Lactobacillus kalixensis</i>	17713 ^T
<i>Brevibacillus reuszeri</i>	17828 ^T	<i>Lactobacillus mucosae</i>	17827 ^T
<i>Brevundimonas aurantiaca</i>	17763 ^T	<i>Lactobacillus</i> sp.	17753*
<i>Brevundimonas intermedia</i>	17761 ^T	<i>Lactobacillus</i> sp.	17754*
<i>Brevundimonas nasdae</i>	17762 ^T	<i>Lactobacillus buchneri</i>	17759*
<i>Chryseobacterium taiwanense</i>	17412 ^{T*}	<i>Lactobacillus buchneri</i>	17760*
<i>Clostridium carboxidivorans</i>	17798 ^T	<i>Luteimonas composti</i>	17598 ^{T*}
<i>Clostridium ljungdahlii</i>	17797 ^T	<i>Marinobacter guadonensis</i>	17799 ^T
<i>Comamonas odontotermitis</i>	17576 ^{T*}	<i>Marinobacter lipolyticus</i>	17800 ^T
<i>Delftia tsuruhatensis</i>	17758 ^T	<i>Marinobacter maritimus</i>	17801 ^T
<i>Dietzia kunjamensis</i>	16871 ^T	<i>Marinobacter salicampi</i>	17794 ^T
<i>Enterobacter ludwigii</i>	17716 ^T	<i>Marinobacter vinifirmus</i>	17802 ^T
<i>Flavobacterium denitrificans</i>	17767 ^T	<i>Methylobacterium aquaticum</i>	17746 ^T
<i>Geobacillus caldoxylosilyticus</i>	17780 ^T	<i>Methylobacterium isbiliense</i>	17748 ^T
<i>Gluconacetobacter saccharivorans</i>	17743 ^T	<i>Methylobacterium suomiense</i>	17745 ^T
<i>Gluconacetobacter nataicola</i>	17742 ^T	<i>Methylobacterium variabile</i>	17747 ^T
<i>Halomonas aquamarina</i>	17781 ^T	<i>Methylobacterium thiocyanatum</i>	17720 ^T
<i>Halomonas gomseomensis</i>	17795 ^T	<i>Nocardioides fonticola</i>	16874 ^T
<i>Halomonas halodurans</i>	17782 ^T	<i>Nocardiopsis exhalans</i>	16881 ^T

菌名	BCRC 編號	菌名	BCRC 編號
<i>Nocardiopsis synnemataformans</i>	16882 ^T	<i>Bionectria compactiuscula</i>	34281*
<i>Nocardiopsis halophila</i>	16264 ^T	<i>Bionectria ochroleuca</i>	34282*
<i>Oceanobacillus oncorhynchi</i>	17790 ^T	<i>Bionectria pseudostrriata</i>	34283*
<i>Oceanobacillus iheyensis</i>	17775 ^T	<i>Biscogniauxia albosticta</i> var. <i>orientalis</i>	33715 ^{T*}
<i>Oceanobacillus oncorhynchi</i> subsp. <i>incaldanensis</i>	17776 ^T	<i>Biscogniauxia ambiens</i>	33716 ^{T*}
<i>Oceanobacillus picturiae</i>	17777 ^T	<i>Biscogniauxia cylindrospora</i>	33717 ^{T*}
<i>Oceanobacillus profundus</i>	17778 ^T	<i>Biscogniauxia formosana</i>	33718 ^{T*}
<i>Oceanobacillus chironomi</i>	17774 ^T	<i>Biscogniauxia formosana</i> var. <i>kentingensis</i>	33719 ^{T*}
<i>Paenibacillus cookii</i>	17816 ^T	<i>Biscogniauxia philippinensis</i> var. <i>microspora</i>	33720*
<i>Paenibacillus taiwanensis</i>	17411 ^{T*}	<i>Calonectria kyotensis</i>	34284*
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	17804	<i>Clonostachys rosea</i>	34195
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	17803	<i>Coemansia aciculifera</i>	34203
<i>Planococcus maritimus</i>	17825 ^T	<i>Coemansia aciculifera</i>	34203
<i>Planococcus rifetoeensis</i>	17826 ^T	<i>Coemansia aciculifera</i>	34229
<i>Pontibacillus chungwhensis</i>	17734 ^T	<i>Coemansia erecta</i>	34199
<i>Pontibacillus marinus</i>	17733 ^T	<i>Coemansia erecta</i>	34228
<i>Pseudoalteromonas agarivorans</i>	17819 ^T	<i>Coemansia linderi</i>	34192*
<i>Pseudoalteromonas aliena</i>	17820 ^T	<i>Coemansia nantahalensis</i>	34200
<i>Pseudoalteromonas elyakovii</i>	17838 ^T	<i>Coemansia nantahalensis</i>	34200
<i>Pseudoalteromonas haloplanktis</i>	17821 ^T	<i>Coemansia reversa</i>	34201
<i>Pseudoalteromonas issachenkoi</i>	17847 ^T	<i>Coemansia spiralis</i>	34204
<i>Pseudoalteromonas marina</i>	17818 ^T	<i>Coemansia spiralis</i>	34230
<i>Pseudoalteromonas paragorgicola</i>	17822 ^T	<i>Coemansia spiralis</i>	34231
<i>Pseudoalteromonas undina</i>	17824 ^T	<i>Coemansia aciculifera</i>	34181*
<i>Pseudoalteromonas translucida</i>	17823 ^T	<i>Coemansia furcata</i>	34182*
<i>Pseudomonas argentinensis</i>	17807 ^T	<i>Coemansia furcata</i>	34183*
<i>Pseudomonas jessenii</i>	17813 ^T	<i>Coemansia furcata</i>	34184*
<i>Pseudomonas moraviensis</i>	17808 ^T	<i>Coemansia furcata</i>	34185*
<i>Pseudomonas putida</i>	17721	<i>Coemansia furcata</i>	34186*
<i>Pseudomonas sp.</i>	17722	<i>Coemansia furcata</i>	34187*
<i>Rothia terrae</i>	17588 ^{T*}	<i>Coemansia furcata</i>	34188*
<i>Salmonella bongori</i>	17715 ^T	<i>Coemansia furcata</i>	34189*
<i>Sphingomonas yabuuchiae</i>	17703*	<i>Coemansia furcata</i>	34190*
<i>Thiobacillus thioparus</i>	17723	<i>Coemansia linderi</i>	34191*
<i>Thiobacillus thioparus</i>	17724	<i>Coemansia linderi</i>	34193*
<i>Thiobacillus thioparus</i>	17725	<i>Coemansia mojavensis</i>	34202 ^T
<i>Thiobacillus thioparus</i>	17726	<i>Cordyceps militaris</i>	34194
<i>Thiobacillus thioparus</i>	17717	<i>Cosmospora obscura</i>	34285*
<i>Trabulsiella odontotermitis</i>	17577 ^{T*}	<i>Cosmospora vilior</i>	34286*
<i>Virgibacillus halophilus</i>	17773 ^T	<i>Haematonectria haemato cocca</i>	34287*
<i>Bullera globispora</i>	23128 ^T	<i>Lanatonectria flocculenta</i>	34288*
<i>Bullera pseudoalba</i>	23123 ^T	<i>Nalanthamala psidi</i>	34322 ^{T*}
<i>Bullera unica</i>	23124 ^T	<i>Nectria balsamea</i>	34289*
<i>Cryptococcus carneges</i>	23127 ^T	<i>Nemania chrysoconia</i>	33710
<i>Cryptococcus dimennae</i>	23129 ^T	<i>Nemania macrocarpa</i>	33712
<i>Cryptococcus flavescens</i>	23101 ^T	<i>Nemania maritima</i>	33711 ^{T*}
<i>Cryptococcus laurentii</i>	23122 ^T	<i>Neonectria coronata</i>	34290*
<i>Cryptococcus nemorosus</i>	23119 ^T	<i>Neonectria discophora</i>	34291*
<i>Cryptococcus peneaus</i>	23126 ^T	<i>Neonectria jungneri</i>	34292*
<i>Cryptococcus zeae</i>	23117 ^T	<i>Neonectria rugulosa</i>	34293*
<i>Kazachstaniania jainicus</i>	23098 ^{T*}	<i>Ophioneectria trichospora</i>	34295*
<i>Malassezia slooffiae</i>	23115 ^T	<i>Penicilliopsis clavariaeformis</i>	33731 ^{T*}
<i>Malassezia globosa</i>	23114 ^T	<i>Penicilliopsis pseudocordyceps</i>	33730 ^{T*}
<i>Malassezia obtusa</i>	23116 ^T	<i>Phytophthora avicenniae</i>	34306
<i>Malassezia sympodialis</i>	23113 ^T	<i>Phytophthora avicenniae</i>	34307
<i>Mrakia frigida</i>	23103 ^T	<i>Podospora anserina</i>	33669*
<i>Pichia anomala</i>	23112	<i>Podospora fimiseda</i>	33666*
<i>Pichia anomala</i>	23111	<i>Podospora formosana</i>	33664*
<i>Rhodotorula yarrowii</i>	23120 ^T	<i>Ramicandelaber brevisporus</i>	34197
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	23130 ^T	<i>Ramicandelaber longisporus</i>	34196
<i>Sporobolomyces yunnanensis</i>	23102 ^T	<i>Sordaria fimicola</i>	33665*
<i>Tetrapsispora namnaonensis</i>	23121 ^T	<i>Stilbocrea gracilipes</i>	34296*
<i>Albonectria albida</i>	34278*	<i>Xylaria papulis</i>	33667*
<i>Albonectria rigidiuscula</i>	34279*		
<i>Ascocoryne cyclchnium</i>	33668*		
<i>Bionectria compactiuscula</i>	34280*		
	CAM		41818
	<i>Escherichia coli</i> phage MS2		70235

T: 標準菌種; *: 本土菌種

gyrB 基因於細菌分類上的應用

生資中心 /副研究員
吳琰奇

細菌的分類演化傳統上是使用形態、生理生化試驗及生長因子等方式來分析，但分子生物的方法出現後，提供了更快速準確的分析結果，傳統的分析方法就逐漸式微了。

兩個物種間的演化距離，可以由核酸或是胺基酸分子的差異來計算，選擇用來分析的分子需具有以下特性：1. 要研究的各個物種皆需具有此分子；2. 在每一物種間，此分子的功能是相同的；3. 在作比較時，此分子的序列必須要能夠排列在一起，以比較其相同及不同處；4. 此分子的演化速率與演化距離最好能相互對應，演化的距離越遠，演化的速率就要越慢。

Woese 等人於 1987 年提出了以 16S rRNA 序列作為研究細菌演化的工具後，其資料庫累積至今，已成為此領域最常使用的序列⁽¹⁾。16S rRNA 的序列包含兩類：高度相同的區域用來區分"屬"以上的鑑別，變異度較大的區域用來區分種以下的鑑別。但非蛋白質轉譯基因 (nonprotein-coding gene)，如 16S rRNA，其序列的變異度會較蛋白質轉譯基因(protein-coding gene)來的少，而且 16S rRNA 的一級及二級結構對其功能有很大的影響，所以核酸的變異速度較慢，約每五千萬年僅有 1% 的變異速度，所以在分析類緣關

係較近的物種上，無法作出明顯的區分。蛋白質轉譯基因由於具有密碼退化 (codon degeneracy) 的特性，所以在基因的歧異度上會大於非蛋白質轉譯基因，約每百萬年有 0.8% 的變異，相對也能提供更多的資訊。

目前有許多的 housekeeping 基因已被用來作為較相近物種的分類工具，如 DNA gyrase 基因。在 DNA 複製時，雙股螺旋必須打開才能進行，當複製叉 (replication fork)一直往前進行時，會使前方的 DNA 產生更多的正超螺旋，阻礙複製叉的前進，這時就需要 topoisomerase 不斷地將其中一股剪斷，旋轉再縫合，以便使複製叉能順利前進。DNA gyrase 屬 topoisomerase II，能產生超負螺旋，並能除去

DNA 複製時所產生的正超螺旋。它能同時切斷雙股 DNA，經旋轉通過切口拉到另一面再縫合，是細菌在進行 DNA 複製所必須的。細菌的 DNA gyrase 具有 2 個 subunit，GyrA 及 GyrB，具有活性的酵素結構為(BA)₂，這兩個 subunit 的基因序列目前都已經應用於分類研究上。

gyrB 基因與 16S rRNA 應用於分類之比較

Yamamoto 等人利用 *Escherichia coli*、*Psuedomonas putida* 及 *Bacillus subtilis* 的 *gyrB* 基因序列，設計出的引子可以成功增殖出多個菌種的 *gyrB* 基因，包括了革蘭氏陽性菌及革蘭氏陰性菌等⁽²⁾。這些 *gyrB* 基因序列經排序比對後，比較 *P. putida* 及 *E. coli* 的 16S rRNA 與 *gyrB* 基因序列的相似度 (表一)，結果顯示 *gyrB* 基因鹼基取代速率 (base substitution frequency) 遠大於 16S rRNA，同時，比較此段 *gyrB* 基因所轉譯出的胺基酸序列後，發現這些不同處多為同義取代 (synonymous substitution)，使轉譯出的胺基酸並沒有改變，能維持蛋白質的正常功能。一般來說，16S rRNA 多用來區分 "屬" 以上的鑑別，而

表一、*P. putida* 與 *E. coli* K-12 的 16S rRNA 與 *gyrB* 基因序列的相似度⁽²⁾

菌 株	相似度 (%) (16S rRNA/ <i>gyrB</i>) with:		
	<i>P. putida</i> JCM 6156	<i>P. putida</i> PB4	<i>E. coli</i> K-12
<i>P. putida</i> IFO 14164	98.9/92.1	99.1/91.6	84.7/74.3
<i>P. putida</i> JCM 6156		99.8/97.6	84.5/74.2
<i>P. putida</i> PB4			84.7/74.3

gyrB 基因可用來區分較接近的物種，如“種”的鑑別。

gyrB 基因與 DNA 雜交應用於分類之比較—以 *Acinetobacter* 為例

DNA 雜交(DNA-DNA hybridization)是目前用來鑑定細菌種間相似度的標準方法⁽³⁾。DNA 雜交是將兩個物種的染色體 DNA 分別變性形成單股 DNA 後，再讓兩者進行結合，依其結合的程度來判斷此兩物種間 DNA 的相似度。在細菌分類研究上，DNA 雜交與 16S rRNA 序列分析兩個方法間存在著一段差距。16S rRNA 序列由於變異速度較慢，在分析類緣關係較近的菌種已遇到了瓶頸，而 DNA 雜交結果只能顯示進行雜交的兩株菌間的相似度，在演化關係上能提供的資訊有限。Yamamoto 等人以 *gyrB* 基因序列分析 *Acinetobacter* 的類緣關係後，認為這段差距似乎可由蛋白質轉譯基因來填補⁽⁴⁾。

Acinetobacter 在自然界中廣泛存在，如水或土壤之中，但同時也是人體皮膚的感染源之一，適合作為醫院感染的指標。另外，有些 *Acinetobacter* 具有 β -lactams 及 aminoglycosides 抗性，所引起的感染很難治療，所以如何迅速且正確檢驗出 *Acinetobacter*，在醫院的感染檢測上是很重要的。

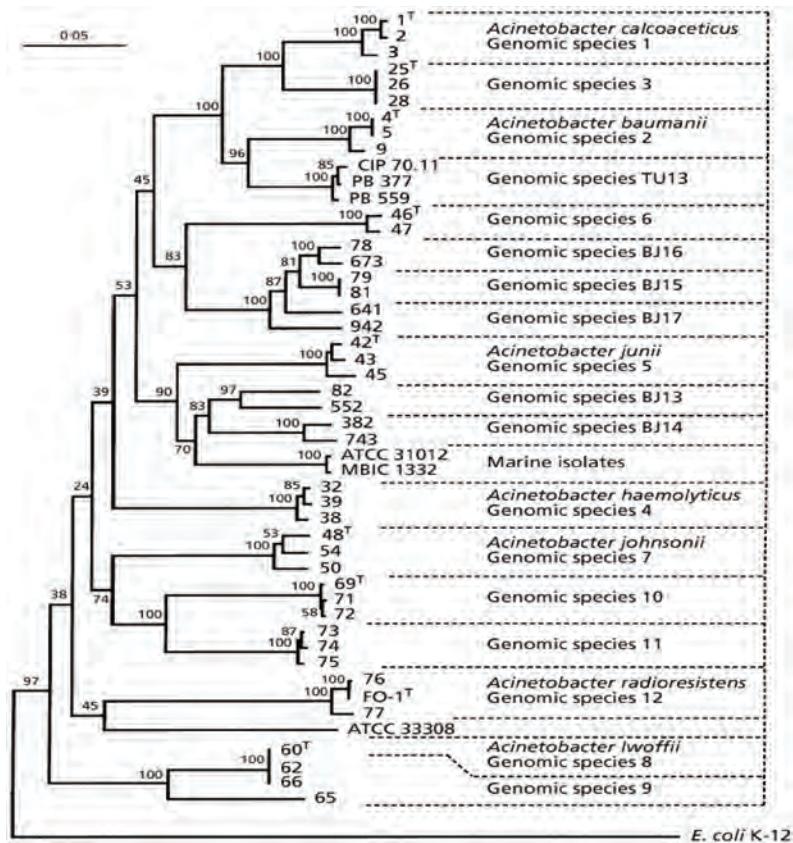
Yamamoto 等人利用 16S rRNA 序列及 DNA 雜交分析 *Acinetobacter* 各個種間的類緣關係，發現此屬中已知種與以 DNA 雜交所分出的 14 個 genomic species 的分類結果並不相符⁽⁵⁾，而且被分在同一群的 genomic species 在生理及形態特徵上並不一致⁽⁶⁾。

而 Yamamoto 等人分析 49 株 *Acinetobacter* 的 *gyrB* 基因部份序

列所得到的類緣樹與 DNA 雜交的結果十分相似(圖一)⁽⁴⁾。

Yamamoto 等人以 *gyrB* 序列為基礎計算 *Acinetobacter* 各種間的演化距離(genetic distances)，發現被歸在同一群的種其演化距離皆小於 0.041，且此分類結果與以 DNA 雜交所區分出的 genomic species 很接近。界定 genomic species 的標準為兩個物種間的 DNA 與 DNA 的相似度需大於 70%，或許可以說兩物種利用 *gyrB* 基因序列為基礎所算出的演化距離若小於 0.041，即可視為同種⁽⁴⁾。

目前新菌發表皆是以 DNA 雜交的結果來分類。由於 DNA 雜交是比較物種全部 DNA 的相似度，其可信度遠大於只比較單一的 protein-coding 基因序列。相較之下，若是以數個 protein-coding 基因為分類基礎，似乎可降低只用一個 protein-coding 基因來分析的風險，而且也會增加其可信度。儘管如此，利用 housekeeping 基因仍可以有效地鑑定出 genomic species，而且 DNA 雜交無法在演化關係上所提供的訊息，可由 housekeeping 基因提供。雖然 DNA 雜交是菌種鑑定最標準的方法，但目前並不普遍，因為 DNA 雜交需要大量純化的染色體 DNA，而且要分別與每一株要比對的菌種作一對一的雜交。相較之下，利用 DNA 序列或圖譜進行分析則簡單多了。如 Janssen 等人利用 AFLP 可將 *Acinetobacter* 區分為 18 genomic species⁽⁷⁾，每一群的相對關係都與 DNA 雜交的結果相同，而且 Yamamoto 等人也以 *gyrB* 基因序列得到了相同的結果。在方便性與正確性的考量下，*gyrB* 基因序列也許是鑑定細菌 genomic species 的最佳工具之一。



圖一、依 49 株 *Acinetobacter* 的 *gyrB* 基因序列所得到的類緣樹⁽⁴⁾。

gyrB 基因序列於快速鑑定上的應用—以分枝桿菌為例

肺結核是由分枝桿菌(mycobacteria)所引起的，主要的病原菌有 *Mycobacterium tuberculosis*、*M. bovis*、*M. leprae* 及 *M. ulcerans*。此外，分枝桿菌還包括有動物的致病菌、潛在性致病菌或為腐生菌等。一般而言，非結核性分枝桿菌(nontuberculous mycobacteria)為伺機性細菌，有時亦會引起人類疾病，但相較之下在臨床上的意義不大，所以如何正確且快速地鑑定出此群菌株是很重要的。

有學者曾利用 16S rRNA 序列及 16S-23S rRNA internal transcribed spacer (ITS) 來區分分枝桿菌。但

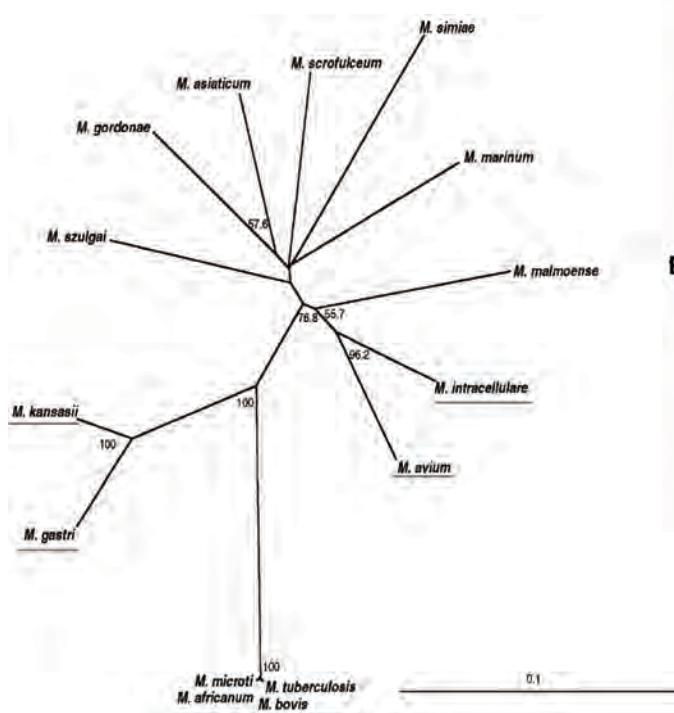
16S rRNA 序列無法區分 *M. kansasii/M. gastri*、*M. malmoense*、*M. szulgai*、*M. marinum*、*M. ulcerans* 或 *M. tuberculosis* complex (*M. tuberculosis*、*M. bovis*、*M. africanum* 及 *M. microti*)⁽⁸⁾。16S-23S rRNA ITS 可以區分出 *M. kansasii/M. gastri*，但仍無法區分 *M. tuberculosis* complex，其 16S-23S rRNA ITS 是完全相同的⁽⁹⁾。

Kasai 等人增殖出 1257~1263 bp 的 *gyrB* 基因序列，轉譯胺基酸後其序列的相似度為 82~99%。*M. kansasii* 及 *M. gastri* 的相似度為 94%，*M. avium* 及 *M. intracellulare* 的相似度為 91%，*M. tuberculosis* complex 中的 4 株菌為 99%。由圖二的親緣樹顯示能有效區分 15 株分枝桿菌，尤其能明顯分別在臨床上較重要的 *M. kansasii*、*M. gastri*、*M. avium*、*M. marinum*、*M. scrofulaceum*、*M. simiae*、*M. malmoense*、*M. intracellulare*、*M. bovis*、*M. africanum* 及 *M. microti* 等菌株。

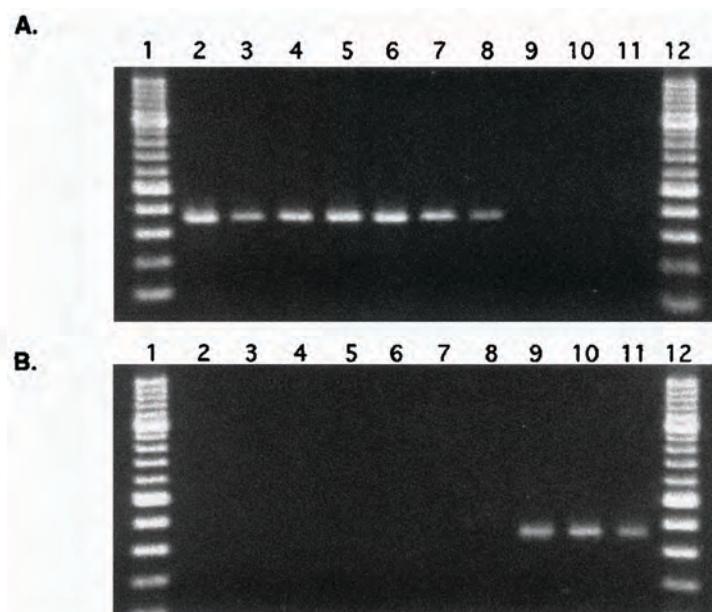
intracellulare 及 *M. tuberculosis* complex 等菌株⁽¹⁰⁾。

M. kansasii 及 *M. gastri* 標準菌株之 *gyrB* 基因序列的相似度為 94.7%，Kasai 等人同時分析屬於此群菌的 8 株分離株的 *gyrB* 基因序列並以 DNA 雜交來確定它們之間的關聯。DNA 雜交的結果顯示其中有 6 株為 *M. kansasii*，另外 2 株為 *M. gastri*，其 *gyrB* 基因序列則與標準菌株的序列完全相同。在 *M. kansasii* 及 *M. gastri* 的 *gyrB* 基因序列中分別發現其特有的序列，其序列相對於 *M. tuberculosis* *gyrB* 基因序列的 613~632 bp 及 962~981 bp。作者針對這些序列設計了專一性引子，可以快速地區分出 *M. kansasii* 及 *M. gastri* (圖三)⁽¹⁰⁾。

在 *M. tuberculosis* complex 部份，Kasai 等人以兩個步驟的 PCR-



圖二、以 *gyrB* 基因序列所畫出的類緣樹⁽¹⁰⁾



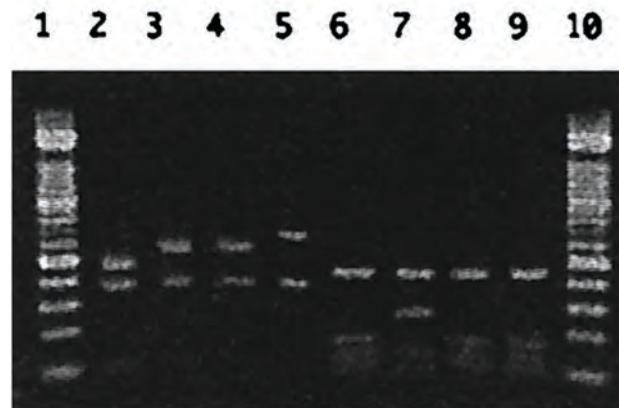
圖三、以 PCR 增殖 *M. kansasii* 及 *M. gastri* 的 *gyrB* 基因序列。A 圖與 B 圖各別使用 *M. kansasii* 及 *M. gastri* 專一的 primer。Lane 2 與 9 分別為 *M. kansasii* 及 *M. gastri* 標準菌株的 DNA，lane 3-8 為臨床上分離出 *M. kansasii* 的細胞破碎物，lane 10-11 為臨床上分離出 *M. gastri* 的細胞破碎物。增殖出的 PCR 產物為 368 bp⁽¹⁰⁾。

RFLP 區分出這4株菌。第一步是先檢測出 *M. tuberculosis* complex，第二步再各別區分這4株菌。先利用 *M. tuberculosis* complex 專一性的引子 (MTUB-f 及 MTUB-r) 進行 PCR 反應，得到此4株菌 1,020 bp 的專一性產物。再將這1,020 bp 的產物分別以 *Rsa*I 及 *Taq*I 作用，所得到的圖譜如圖四。*M. bovis* (lane 2) 與 *M. microti* (lane 5) 可以由 *Rsa*I 作用後的圖譜來區別，各別有 500 bp 及 700 bp 的片段出現，而 *M. tuberculosis* 及 *M. africanum* 則都有 600 bp 的片段。

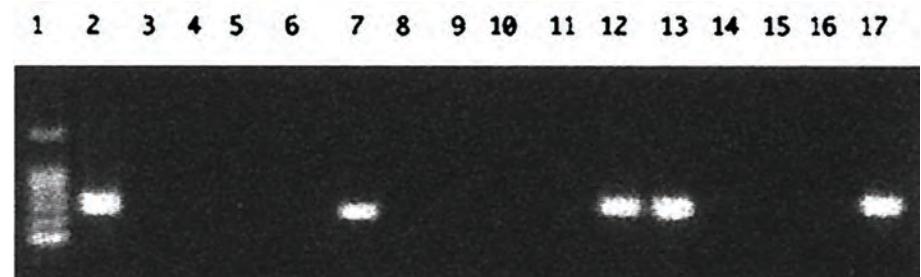
以 *Taq*I 作用後，*M. tuberculosis* 得到 300 bp 的片段，其它三株菌則是有 150 bp 的片段。以上結果顯示可利用 RFLP 分析 *gyrB* 基因的圖譜來有效區分 *M. tuberculosis* complex⁽¹⁰⁾。

另外，在比較 *M. tuberculosis* complex 4 株菌的 *gyrB* 基因序列後，發現有數個不同處皆為同義取代，較像自然發生的突變，而不是因人為因素，像是在藥物治療過程中使菌株產生抗藥性，因為這類的突變都會牽涉到蛋白質結構的改變。由這些資訊設計出4組各別專一於 *M. tuberculosis* complex 中4株菌的 primer，756-G 及 1410-C 只可增殖出 *M. tuberculosis* 的 *gyrB* 基因序列，756-A 及 1410-A 只可增殖出 *M. bovis* 的 *gyrB* 基因序列，756-G 及 1410-A 只可增殖出 *M. africanum* 的 *gyrB* 基因序列，756-G 及 1450-A 與 675-T 及 1410-G 只可增殖出 *M. microti* 的 *gyrB* 基因序列 (圖五)⁽¹⁰⁾。

臨牀上常發現生長較緩慢的分枝桿菌 (slowly growing mycobacteria)，可利用 PCR 或是 PCR-RFLP 分析其 *gyrB* 基因序列，不用經過定序的過程，可快速地鑑定出臨床的分離株，對醫生在診治病人上有很大的助益。



圖四、*M. tuberculosis* complex 的 PCR-RFLP 圖譜。Lane 2 & 6: *M. microti*, lane 3 & 7: *M. tuberculosis*, lane 4 & 8: *M. africanum*, lane 5 & 9: *M. bovis*。Lane 2-5:以 *Rsa*I 處理後的圖譜，lane 6-9:以 *Taq*I 處理後的圖譜⁽¹⁰⁾。



圖五、*M. tuberculosis* complex 以專一 primer 所得到的 PCR 圖譜。Lane 2, 6, 10, 14: *M. tuberculosis*; lane 3, 7, 11, 15: *M. bovis*; lane 4, 8, 12, 16: *M. microti*; lane 5, 9, 13, 17: *M. africanum*。Primer: lane 2-5: 210-G & 442-C; lane 6-9: 756-A & 1410-A; lane 10-13: 756-G & 1410-A; lane 14-17: 675-T & 1410-G⁽¹⁰⁾。

結論

目前在研究相近物種的類緣關係及快速鑑定上，*gyrB* 基因已成為重要工具之一。除了上述的例子外，*gyrB* 基因已被用來分析像是 *Aeromonas*⁽¹¹⁾、*Enterobacteriaceae*⁽¹²⁾、*Helicobacter*⁽¹³⁾、*Vibrio*⁽¹⁴⁾ 和 *Bacillus*^(15,16) 等菌屬內的類緣關係。*gyrB* 基因適合作為分類指標的基因主要具有下列特性：

1. 為 housekeeping 基因，負責細胞生長中必要的步驟，如 DNA 複

製、轉錄及轉譯等。

2. 屬於非重複性序列 (single copy gene)。
3. 至少要有2片段是固定的序列，以用來設計 PCR 的 primer。

gyrB 基因具有上述的特性，所以很適合作為分類的指標。相較於 16S rRNA 序列，*gyrB* 基因的演化速度較 16S rRNA 序列快，可利用 PCR 或是 PCR-RFLP 的圖譜直接分析結果，不需定序即可快速且正確的作出鑑定，很適合用在臨床或食品微生物的快速檢測上。

參考文獻

1. C. R. Woese, *Microbiol. Rev.* 51, 221 (1987).
2. Harayama, *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1104 (1995).
3. E. Stackebrandt, W. Liesack, in *Handbook of New Bacterial Systematics*, M. Goodfellow, A. G. O'Donnell, Ed. (Academic Press, London, 1993), pp. 151-194.
4. S. Yamamoto, P. J. M. Bouvet, S. Harayama, *Int. J. Syst. Envl. Microbiol.* 49, 87 (1999).
5. S. Yamamoto, S. Harayama, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46, 506 (1996).
6. A. Ibrahim, P. Gerner-Smidt, W. Liesack, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47, 837 (1997).
7. P. Janssen *et al.*, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47, 179 (1997).
8. A. Telenti *et al.*, *J. Clin. Microbiol.* 31, 175 (1993).
9. A. Roth, *et al.*, *J. Clin. Microbiol.* 36, 139 (1998).
10. H. Kasai, T. Ezaki, S. Harayama, *J. Clin. Microbiol.* 38, 301 (2000).
11. M. A. Yáñez, V. Catalán, D. Apráiz, M. J. Figueras, A. J. Martínez-Murcia., *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 875 (2003).
12. C. Dauga, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52, 531 (2002).
13. M. Hannula, M. Hänenen, *Int. J. Syst. Envl. Microbiol.* 57, 444 (2007).
14. K. Venkateswaran, N. Dohmoto, S. Harayama, *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 681 (1998).
15. S. Yamada *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 1483 (1999).
16. L. T. Wang, F. L. Lee, C. J. Tai, H. P. Kuo, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58, 671 (2008).

類酵母真菌 *Pseudozyma* 屬之應用

生資中心 /副研究員
魏育慧

Pseudozyma 屬通常分離自植物組織，在分類上隸屬於真菌擔子菌門(Basidiomycota)，黑穗菌綱(Ustilagomycetes)之無性世代，應用十分廣泛，包括生物防治、抗真菌藥物、糖脂質生物界面活性劑(glycolipid biosurfactant)、低熱量甜味劑丁四醇及生物降解等，本文將簡介 *Pseudozyma* 屬之應用概況。

生物防治

白粉病 (powdery mildew) 是由白粉菌科(Erysiphaceae)的真菌所引起的植物病害。在農業及園藝上，白粉病一直是令人頭痛的問題；這種植物疾病會使作物減產，導致經濟損失；而 *Pseudozyma flocculosa* 及 *Pseudozyma rugulosa* 可在 24-48 小時內，抑制白粉病菌孢子之萌發、使白粉病菌菌絲生長緩慢、胞漿溶解(plasmolysis)、孢子鏈萎縮崩解。其中 *P. flocculosa* 在不同溫度、溼度及 pH 等條件下，對白粉病之防治效果較 *P. rugulosa* 佳。

在一連串以溫室植物為對象之白粉病防治試驗後，Plant Products 公司在 2000 年，分別在美國及加拿大完成 Sporodex® 之商品註冊。Sporodex® 是以 *P. flocculosa* 之分生

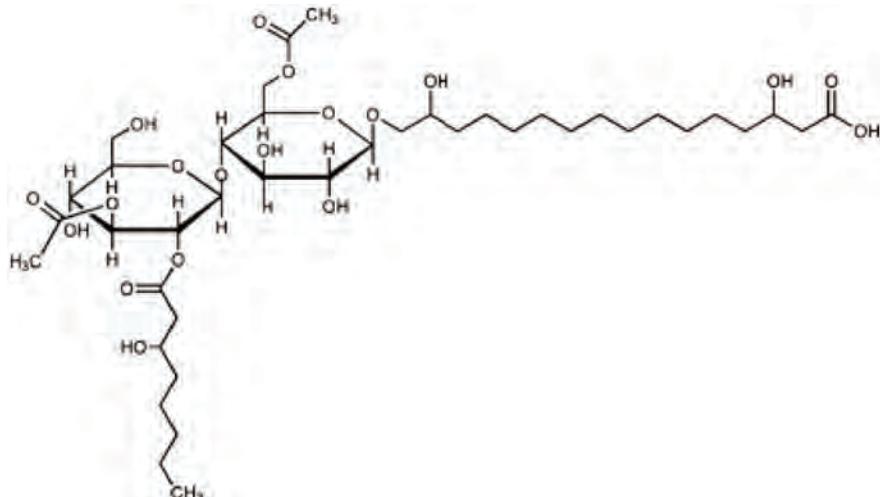
孢子為基底，可加水溶解使用之生物製劑，目前已有商品上市，主要用於溫室栽培植物及高經濟作物之白粉病防治⁽¹⁾。

抗菌物質之開發

在顯微鏡下觀察可以發現 *P. flocculosa* 及 *P. rugulosa* 並非經由菌絲侵入等機制來抑制白粉病菌，因此研究人員推論 *P. flocculosa* 及 *P. rugulosa* 對白粉菌的抑制效應，應是藉由抗菌物質或水解酵素的產生。經分析 *Pseudozyma* 屬如：*P. flocculosa*、*P. fusiformata*、及 *P. rugulosa* 等菌株之培養液及代謝產物後，發現多種具抗菌活性之物質，其中大部分為脂肪酸。

從 *P. rugulosa* 分離出之 cis-9-Heptadecenoic acid (CHDA)、4-methyl-7,11-heptadecadienal、4-methyl-7,11-heptadecadienoic acid 等脂肪酸，其抗菌成因主要是跟細胞膜中的磷脂質作用，干擾細胞膜表面的流動性，其專一性受細胞膜的組成影響，當細胞膜含固醇(sterol)成分越高時，對這類抗菌物質的敏感度越低，抵抗性相對提高，這也可以解釋為何這類抗菌物質對於 *Fusarium oxysporum*、*Botrytis cinerea*、*Trichoderma viride* 等土壤真菌及

革蘭氏陽性細菌(Gram (+) bacteria)有極佳的抑制效果，但對於*Pseudozyma*屬本身及其近似真菌則不會發生影響⁽²⁾。*P. flocculosa*及*P. fusiformata*之培養液可分離出flocculosin(圖一)，對大部分致病性酵母菌株具有抑制作用，其衍生物對於抗真菌藥物的研發，提供了一個新的方向⁽³⁾。另外，產自*P. fusiformata*菌株之醣脂質可對抗大部分之酵母菌、類酵母真菌及絲狀真菌，可作為致病性真菌之生物防治物質，也可用於飼料及食物之防黴保存⁽⁴⁾。



圖一、flocculosin (Mimee et al., 2005)

生物轉換

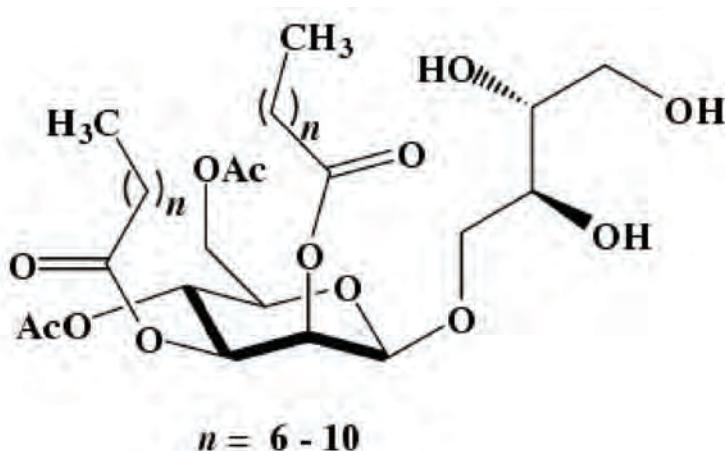
當以蔬菜油為基質培養*Pseudozyma antarctica*、*Pseudozyma aphidis*、*P. rugulosa*等菌株時，可生成一種醣脂質類之生物界面活性劑(Biosurfactant) — 甘露醣基丁四醇(Mannosylerythritol lipid; MEL)(圖二)。其中*P. antarctica*更可將正烷類之長短鏈(n-alkanes)轉換為MEL，而烷類為石油之組成成份之一⁽⁵⁾。

目前常用之化學界面活性劑通常對環境中的微生物具有毒

性，無法生物降解，會堆積於環境及生物體內，造成危害。有些界面活性劑本身雖不具毒性，但其分解後之產物，或生產及製程過程之副產物具環境危害性，因此在使用界面活性劑時，除了價格及功效之外，其環境毒性也應納入考量的範圍。生物界面活性劑通常不具環境毒性，也可生物分解，避免堆積於環境中或進入食物鏈，囤積於人體。而*Pseudozyma*屬菌株可將石油中之n-alkanes轉換為MEL，除菌株本身可利用石油中的成分，MEL亦可使油水相溶，幫助週遭微生物分解石油，對於遭石油污染之生

態復育，提供極佳的應用可能性⁽⁶⁾。

此外MEL亦具抗腫瘤活性，可誘發人類髓性白血病(human promyelocytic leukemia)細胞株HL-60及大鼠嗜鉻細胞瘤(rat pheochromocytoma)細胞株PC12之細胞分化，並可抑制老鼠黑色素瘤(mouse melanoma)細胞株B16之生長，並造成B16細胞株之細胞凋亡(apoptosis)。MEL也具有破壞其他微生物細胞膜之功能，主要是抑制革蘭氏陽性菌。MEL也可應用於藥物輸送微粒之研發。因為功效頗多，在商業及醫學上有極佳之應用潛力，已有學者開始試圖研究如何將其量產⁽⁷⁾。而*Pseudozyma*屬內菌種可產生豐富的MEL，陸續有文獻進一步研究*Pseudozyma*屬內菌種之MEL產量以及成份構造，結果顯示*Pseudozyma*屬所生成之MEL，不僅產量豐富，同時在結構上也具有多樣性，可提供多方面之研發應用^(8, 9)。



圖二、*Pseudozyma antarctica*所產生之MEL

生產丁四醇

丁四醇為一低熱量(蔗糖之1/

10)、非齲蝕性之機能性糖醇類甜味料，其甜度約為蔗糖之70~80%，有不錯之加工特性。在日本之使用主要是以飲料、餐桌用糖、口香糖、糖果、健康食品為主；*Pseudozyma*屬內許多菌株皆具有生產丁四醇之潛力，在今日消費者對產品多樣化與健康的需求下，低熱量甜味料技術與產品的開發及發展迅速成長，*Pseudozyma*屬亦提供一量產丁四醇之可能途徑。

生物降解

*Pseudozyma*屬菌株可分解利用自然界僅次於纖維素的豐富資源-半纖維素⁽¹⁰⁾，此外*Pseudozyma jejuensis*可生成角質素分解酶(cutinase)，並分解聚己內酯多元醇(Polycaprolactone)。聚己內酯多元醇是一種塑膠材料，主要應用於人造革皮、塗料、聚氨酯彈性

體、塑料、電子材料、醫用高分子材料等領域。*P. jejuensis*及其所生成之 cutinase 或許可應用於塑膠廢料之分解，或參與可燃性塑料之轉化，應用於替代燃料之開發⁽¹¹⁾。

*Pseudozyma*屬在食品、農業、環境及醫藥等領域深具應用潛力，本所目前已建立*Pseudozyma*屬之分離培養與分類鑑定技術，並建構相關菌種之菌種庫和發酵庫，同時進行初步之功能篩選，預期未來可提供各界做為活性物質篩選之素材。

參考文獻

1. T. C. Paulitz, R. Belanger, *Annu. Rev. Phytopathol.* 39, 103 (2001).
2. T. J. Avis, R. R. Belanger, *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 956 (2001).
3. B. Mimee, C. Labbe, R. Pelletier, R. R. Bélanger, *Antimicrob. Agents*
- Chemother.
4. T. J. Kulakovskaya, A. S. Shashkov, E. V. Kulakovskaya, W. I. Golubev, *FEMS Yeast Res.* 5, 919 (2005).
5. D. Kitamoto *et al.*, *Biotechnol. Lett.* 23, 1709 (2001).
6. I. M. Banat, R. S. Makkar, S. S. Cameotra, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 66, 551 (2000).
7. J. H. Im, T. Nakane, H. Yanagishita, T. Ikegami, D. Kitamoto, *BMC Biotechnol.* 1:5(2001).
8. T. Morita, T. Konishi, T. Fukuoka, H. K. Kitamoto, D. Kitamoto, *FEMS Yeast Res.* 7, 286 (2007).
9. T. Fukuoka, T. Morita, M. Konishi, T. Imura, D. Kitamoto, *Carbohydr. Res.* 343, 555 (2008).
10. W. J. Middelhoven, *Antonie van Leeuwenhoeck*, 72, 81 (1997).
11. H.-S. Seo *et al.*, *FEMS Yeast Res.* 7, 1035 (2007).

中 心 公 告

政府為全力輔導生技產業成為我國另一個「兆元產業」，行政院與立法院充分合作，特別針對生技產業的高風險特性，於96年6月中旬通過「生技新藥產業發展條例」，並依其第六條第三項規定訂定「營利事業適用生技新藥公司股東投資抵減辦法」及第五條第三項規定訂定「生技新藥公司研究與發展及人才培訓支出適用投資抵減辦法」，此二辦法並於97年2月29日於行政院正式公佈。

「營利事業適用生技新藥公司股東投資抵減辦法」是政府鼓勵企業或創業投資生技新藥公司，對連續持有生技新藥公司股票三年以上的法人股東，股款的20%可扣抵營利事業所得稅，而創業投資公司的法人股東得按出資比率，扣抵營利事業所得稅。「生技新藥公司研究發展及人才培訓支出適用投資抵減辦法」是政府為鼓勵生技新藥發展，對生技新藥公司投入研究發展及人才培訓其相關費用的35%，可自其應納營利事業所得稅額起，連續扣抵五年。

有意申請審定成為生技新藥公司之廠商得檢具文件、資料，向經濟部申請審定為生技新藥公司，以適用上述辦法的投資抵減之優惠措施。相關辦法請參考行政院公報第014卷，第038期，20080229，綜合行政篇。

審定公告之專利寄存生物材料

資料範圍自 96 年 12 月至 97 年 4 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
小球藻固定二氧化碳/I291493	<i>Chlorella sorokiniana</i> NTU-H15	980007	楊盛行
	<i>Chlorella sorokiniana</i> NTU-H25	980008	
啟動子與其應用/I293647	pMS-Hsp (於大腸桿菌 DH5 α)	940473	財團法人食品工業發展研究所
新穎纖維化纖維微細菌及其製劑與用途/I294459	纖維化纖維單胞菌(<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>) CC-GS16-1	910242	楊秋忠
製造牛糞堆肥木黴菌種/I295686	木黴菌(<i>Trichoderma</i> sp.) TCT 301	930073	行政院農業委員會 台中區農業改良場
新穎之酵母菌及其應用/I295687	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> TSRI-210106	920059	台灣糖業股份有限公司

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。

早期公開之專利寄存生物材料

資料範圍至 97 年 4 月

專利名稱關鍵字/公開號	寄存生物材料名稱	BCRC 編號	專利申請人
膽固醇合成抑制劑 Monacolin K 生合成相關基因/200521230	pMPF 002(於大腸桿菌 EPI 300)	940471	財團法人食品工業發展研究所
豬霍亂沙門氏桿菌標的基因缺損突變株及減毒疫苗製備/200630488	豬霍亂沙門氏桿菌 phoQ 基因缺損株 SCPQ1	910285	國立中興大學
	豬霍亂沙門氏桿菌 crp 基因缺損株 SCRP19	910286	
生產 5'-黃嘌呤酸微生物及生產方法/200634150	產氣棒狀桿菌 CJXSul 0401 (<i>Corynebacterium ammoniagenes</i> CJXSul 0401)KCCM-10609	910307	C J 股份有限公司 (韓國)
洋菜分解酶基因之質體及應用/200808968	<i>Alcaligenes</i> sp. Strain Yen AY 744384	910332	李炎、楊惠春

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，相關專利已公開但尚未審定公告，其專利名稱之關鍵字、專利公開號及專利申請人資料如上表。

2. 上述專利申請案因尚未審定公告，生物材料尚無法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。

3. 洽詢專線：(03)5223191 轉 233 或 513。

生物資源保存及研究簡訊 第 73 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：國大打字行

電話：(03)526-4220

ISSN：1021-7932

GPN：2009001214

ISSN 1021-7932

