



財團法人食品工業發展研究所

生物資源保存及研究簡訊

第22卷第1期

中華民國98年3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

- ◎ 生物資源保存及研究中心參與本所推動之「經濟部食品加工業技術升級輔導團」，並於啓動典禮中展示研發成果

研發成果 2

- ◎ 新技術
本所紅麴菌相關專利
- ◎ 新資源
- ◎ 新服務
利用 β -tubulin基因序列分析鑑別釀酒、烘焙與保健食品產業用酵母菌菌群之學名

知識專欄 6

- ◎ 植物內生性放線菌
- ◎ 致病性退伍軍人菌

專利微生物 12

- ◎ 審定公告之專利寄存生物材料

生物資源保存及研究中心參與本所推動之「經濟部食品加工業技術升級輔導團」，並於啓動典禮中展示研發成果



▲ 經濟部食品加工業技術升級輔導團啓動典禮於3月31日在雲林縣農會舉行。右起雲林縣工業會王茂陵理事長、本所劉廷英所長、經濟部技術處吳明機處長、立法院張麗善最高顧問、雲林縣中小企業協會翁慶亮理事長。

(圖：本所企劃室 羅瑞娟小姐提供)

在全球景氣寒冬中，經濟部將強力推動一系列產業關懷活動，其中由本所率先啓動食品加工業技術升級輔導團，並在經濟部指導下於98年3月31日上午10時在雲林縣農會舉行「經濟部食品加工業技術升級輔導團啓動典禮」。

「經濟部食品加工業技術升級輔導團」的推動目標為提升我國農產加工食品之附加價值；建立台灣製造優質加工食品之品質形象；拓展國產優質加工食品之國內外及大陸市場。此食品加工業技術輔導團是以本所為核心，結合其他包括工研院與金屬中心等法人研究機構之核心能量，優先針對雲林、彰化、台中、嘉義、南投等五縣市農產食品加工業，推動協助產業技術升級的具體關懷行動，以本所既有之核心能量為主軸，並與政府相關部會之資源互相搭配，期能帶動產業技術升級，有效協助地方產業與區域經濟發展。

本所生資中心在經濟部食品加工業技術升級輔導團啓動典禮中，公開展示研發成果與技術共19項，在食品加工及製程領域，以發酵食品生產開發相關技術為主，包括：醋飲料、發酵果汁、醬油及豆腐乳等；在保健食品相關領域，則包括：乳酸菌、紅麴、光合菌、綠藻生長素微膠囊產品、微乳化技術、脂溶性高抗氧化物質固脂粒產品生產技術、全脂黃豆粉原料培養酵母菌技術、酵母菌金屬硫蛋白生產技術、樟芝萃取分離及抗氧化與抑癌效果評估技術、微生物之Co-Q₁₀、茄紅素、肉鹼、GSH之機能性產品、微生物纖維素、可食用微生物庫、特殊微生物庫及開發新產品之發酵技術等；在食品機械及包裝領域有微生物培養控制系統；另提供歷年來可移轉技術項目共計53項。

(資料來源：本所企劃室)

新技術

本所紅麴菌相關專利

生資中心／資深研究員
袁國芳

現代人健康的主要問題就是三高--高血壓、高膽固醇、高血糖，而紅麴這個傳統已使用上千年的發酵產品，就有降血壓、降膽固醇、降血糖等的生理功效。此外紅麴菌也是少數東方應用與研究遠較西方深入的微生物，更有趣的是紅麴菌能夠產生天然色素、具有抑菌作用、分泌特殊酵素等特性，是食品加工上不可多得的好幫手。紅麴產品可說是既好看、又好吃，更有益健康。

本所因此選定紅麴菌，在經濟部科技專案計畫的支持下，進行

多年的紅麴菌相關研究，更在行政院科發基金的協同支持下進行紅麴菌基因體的研究，在2004年完成解碼，是我國第一個獨立完成的真核生物基因體定序，可說是將最尖端的生物科技，運用在此傳統發酵微生物。我們發現紅麴菌有接近上萬個基因，其中有一千多個新蛋白質，很可能是紅麴菌特有的。這些年我們在紅麴菌的研究，已獲得多項多國專利，簡介如下表，更希望能落實業界生產具競爭力的紅麴產品。

表1、本所紅麴菌相關專利與技術內容

專利名稱	國 別	摘 要
利用固態營養基質懸浮液培養絲狀真菌的方法	中華民國、大陸、日本、美國	本發明提供一種利用固態營養基質懸浮液培養絲狀真菌之技術。此技術主要結合傳統固態發酵與液態培養之特點，並同時克服了固態發酵在規模放大與操作上之困難，以及液態發酵中代謝物產量偏低之問題。利用本技術，可明顯提高絲狀真菌及其代謝物之產量。
紅麴菌突變株及其製備黃色素之用途	中華民國、日本、美國	本發明提供一株低桔黴素、高黃色色素產量的紅麴菌株及其發酵培養技術。本專利菌株可用於生產低成本高品質的黃色色素。
紅麴菌突變株及其於製備具降血壓活性發酵產物之用途	中華民國、大陸、日本、美國	本發明提供一株低桔黴素、高胺基丁酸產量的紅麴菌株及該菌株的發酵培養技術。利用本技術，可生產具降血壓功效的紅麴發酵產品。
啟動子與其應用	中華民國、大陸、法國、韓國	本發明包含兩組高表現的acuF和hsp紅麴啟動子，兩啟動子分別建構在具篩選指標HPH及螢光基因的載體上，本發明之載體適用於多種絲狀真菌之轉型系統，可作為菌種改良之工具，如增加酵素基因表現、二次代謝物基因表現及不良基因剔除(knockout)等，可衍生安全且更具產業利用性之菌種。
膽固醇合成抑制劑Monacolin K合成相關基因	中華民國、韓國	本技術提供紅麴菌monacolin K合成基因組包括2個聚縮酮合成酶基因，以及7個調控基因的DNA及氨基酸序列，利用此monacolin K合成基因組進行基因操控，可以提高monacolin K的生成，可用以生產具降膽固醇活性的紅麴產品。
反轉錄轉座子以及其應用	中華民國、美國	本發明提供紅麴菌一連串重複序列MpT (Monascus pilosus transposon)，並對此MpT非長端反轉錄轉座子之特性、在紅麴菌之分布與其演化樹進行分析。該MpT反轉錄轉座子具有可插入基因體之活性。利用本技術之MpT反轉錄轉座子可以建構紅麴菌之穿梭載體與表現載體。

新資源

生物資源保存及研究中心近期公開菌種包括古生菌、細菌、放線菌、酵母菌、絲狀真菌、質體、宿主以及選植株等，共計82屬161種203株，分別來自土壤、泉水、海水、溫泉、污泥、食品、植物、菇類及動物(如昆蟲、蝦、海蛞蝓、海綿、貝類)等基質，其中，包含標準菌種115株，本土菌種51株，各菌株資訊請上網查詢 <http://strain.bcrc.firdi.org.tw/BSAS/>。

菌 名	BCRC 編號
古 生 菌	
<i>Acidianus albonavi</i> (unpublished)	AR10032 [†]
<i>Methanosarcina barkeri</i>	16175 [†]
放 線 菌	
<i>Isoptericola</i> sp.	16888 [†]
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	16883
<i>Saccharomonospora cyanea</i>	16886 [†]
<i>Saccharomonospora xinjiangensis</i>	16887 [†]
<i>Saccharopolyspora rectivirgula</i>	16885 [†]
<i>Streptomyces</i> sp.	16884 [†]
細 菌	
<i>Acinetobacter</i> sp.	17874
<i>Aeromonas aquariorum</i>	17946 [†]
<i>Agarivorans albus</i>	17962 [†]
<i>Alishewanella fetalis</i>	17873 [†]
<i>Alishewanella ichalkaranjiasoli</i>	17848
<i>Anoxybacillus voinovskiensis</i>	17932 [†]
<i>Anoxybacillus contaminans</i>	17931 [†]
<i>Anoxybacillus kamchatkensis</i>	17930 [†]
<i>Anoxybacillus pushchinoensis</i>	17929 [†]
<i>Azonexus hydrophilus</i>	17657 [†]
<i>Azospirillum oryzae</i>	17901 [†]
<i>Azospirillum amazonense</i>	14279 [†]
<i>Azospirillum lipoferum</i>	12213 [†]

菌名	BCRC 編號
細菌	
<i>Bacillus plakortidis</i>	17891 ^T
<i>Bacillus altitudinis</i>	17879 ^T
<i>Bacillus barbaricus</i>	17859 ^T
<i>Bacillus butanolivorans</i>	17877 ^T
<i>Bacillus gibsonii</i>	17876 ^T
<i>Bacillus murimartini</i>	17892 ^T
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	17902
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	17890
<i>Bacillus muralis</i>	17878 ^T
<i>Bacillus</i> sp.	17910 [*]
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	17903
<i>Belliella baltica</i>	17895 ^T
<i>Brevundimonas mediterranea</i>	17904 ^T
<i>Burkholderia sabiae</i>	17587 ^{T*}
<i>Caldimonas manganoxidans</i>	17858 ^T
<i>Chromobacterium aquaticus</i>	17769 ^{T*}
<i>Chryseobacterium taeanense</i>	17961 ^T
<i>Clostridium beijerinckii</i>	17899
<i>Clostridium difficile</i>	17900 ^T
<i>Clostridium beijerinckii</i>	17950
<i>Clostridium pasteurianum</i>	17855 ^T
<i>Clostridium xylanolyticum</i>	17897 ^T
<i>Comamonas composti</i>	17659 ^{T*}
<i>Cytophaga hutchinsonii</i>	17856 ^T
<i>Deefgea rivuli</i>	17927 ^T
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i> subsp. <i>desulfuricans</i>	17857
<i>Duganella</i> sp.	17925 [*]
<i>Endozoicomonas elysicola</i>	17936 ^T
<i>Ensifer adhaerens</i>	17908
<i>Ensifer adhaerens</i>	17909 ^T
<i>Enterobacter</i> sp.	17912 [*]
<i>Enterobacter</i> sp.	17911 [*]
<i>Exiguobacterium indicum</i>	17947 ^T
<i>Exiguobacterium mexicanum</i>	17949 ^T
<i>Flectobacillus major</i>	17872 ^T
<i>Gluconacetobacter kombuchae</i>	17945 ^T
<i>Halomonas salina</i>	17875 ^T
<i>Klebsiella</i> sp.	17913 [*]
<i>Lactobacillus amylophilus</i>	17923 ^T
<i>Lactobacillus graminis</i>	17898 ^T
<i>Lactobacillus psittaci</i>	17924 ^T
<i>Lactobacillus capillatus</i>	17811 ^{T*}
<i>Lactobacillus zeae</i>	17942 ^T
<i>Listeria monocytogenes</i>	17937
<i>Luteimonas aquatica</i>	17731 ^{T*}
<i>Microbacterium aerolatum</i>	17918 ^T
<i>Microbacterium chocolatum</i>	17868 ^T
<i>Microbacterium</i>	17865 ^T
<i>hydrocarbonoxydans</i>	

菌名	BCRC 編號
細菌	
<i>Microbacterium maritropicum</i>	17917 ^T
<i>Microbacterium natorense</i>	17919 ^T
<i>Microbacterium oleivorans</i>	17860 ^T
<i>Microbacterium paraoxydans</i>	17862 ^T
<i>Microbacterium phyllosphaerae</i>	17863 ^T
<i>Microbacterium schleiferi</i>	17861 ^T
<i>Microbacterium terrae</i>	17920 ^T
<i>Microbacterium thalassium</i>	17866 ^T
<i>Microbacterium foliorum</i>	17864 ^T
<i>Microbacterium hominis</i>	17867 ^T
<i>Microbacterium ketosireducens</i>	17921 ^T
<i>Microbacterium luteolum</i>	17922 ^T
<i>Microbacterium resistens</i>	17951
<i>Micrococcus lylae</i>	12151 ^T
<i>Naxibacter alkaliolerans</i>	17896 ^T
<i>Novosphingobium naphthalenivorans</i>	17915 ^T
<i>Paenibacillus contaminans</i>	17728 ^{T*}
<i>Paenibacillus taichungensis</i>	17757 ^{T*}
<i>Paracoccus marinus</i>	17905 ^T
<i>Pseudidiomarina marina</i>	17749 ^{T*}
<i>Pseudidiomarina tainanensis</i>	17750 ^{T*}
<i>Pseudogulbenkiania subflava</i>	17727 ^{T*}
<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	17869 ^T
<i>Pseudomonas</i> sp.	17914 [*]
<i>Salinivibrio</i> sp.	17928 [*]
<i>Simiduia agarivorans</i>	17597 ^{T*}
<i>Sinobacter flavus</i>	17871 ^T
<i>Solimonas soli</i>	17870 ^T
<i>Sphingobium rhizovicinus</i>	17770 ^{T*}
<i>Staphylococcus capitis</i> subsp. <i>urealyticus</i>	17916 ^T
<i>Staphylococcus simiae</i>	17938 ^T
<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>	17959
<i>Stenotrophomonas</i> sp.	17926 [*]
<i>Stigmatella aurantiaca</i>	17907 ^T
<i>Tenacibaculum aiptasiae</i>	17655 ^{T*}
<i>Terrimonas ferruginea</i>	17943 ^T
<i>Terrimonas lutea</i>	17944 ^T
<i>Thalassomonas ganghwensis</i>	17948 ^T
<i>Virgibacillus chigunensis</i>	17637 ^{T*}
<i>Vogesella perlucida</i>	17730 ^{T*}
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	17882
酵母菌	
<i>Candida dajiaensis</i>	23099 ^{T*}
<i>Candida jianshihensis</i>	23096 ^{T*}
<i>Candida sanyiensis</i>	23094 ^{T*}

菌名	BCRC 編號
酵母菌	
<i>Candida yuanshanicus</i>	23100 ^{T*}
<i>Kazachstania aerobia</i>	23167 ^T
<i>Kazachstania solicola</i>	23166 ^T
<i>Pichia caribbica</i>	23164 ^T
<i>Saccharomyces mikatae</i>	23149
<i>Saccharomyces cariocanus</i>	23155
<i>Saccharomyces cariocanus</i>	23156 ^T
<i>Saccharomyces cariocanus</i>	23158
<i>Saccharomyces cariocanus</i>	23159
<i>Saccharomyces kudriavzevii</i>	23161
<i>Saccharomyces kudriavzevii</i>	23162
<i>Saccharomyces kudriavzevii</i>	23163
<i>Saccharomyces mikatae</i>	23150
<i>Saccharomyces mikatae</i>	23151
<i>Saccharomyces mikatae</i>	23152
<i>Saccharomyces mikatae</i>	23157 ^T
<i>Saccharomyces paradoxus</i>	23147
<i>Saccharomyces paradoxus</i>	23154
絲狀真菌	
<i>Acremonium exuvium</i>	34360 ^T
<i>Alternaria radicina</i>	33654 [*]
<i>Alternaria zimmiae</i>	33655 [*]
<i>Ceratocystis paradoxa</i>	34425 [*]
<i>Ceratocystis paradoxa</i>	34426 [*]
<i>Chaetocladium brefeldii</i>	34356 [*]
<i>Cordyceps militaris</i>	34380
<i>Cunninghamella antarctica</i>	34341 ^T
<i>Cunninghamella bertholletiae</i>	34349
<i>Cunninghamella binariae</i>	34347 ^T
<i>Cunninghamella blakesleeana</i>	34355 ^T
<i>Cunninghamella clavata</i>	34350 ^T
<i>Cunninghamella echinulata</i>	34340
<i>Cunninghamella echinulata</i>	34343
<i>Cunninghamella echinulata</i>	34344
<i>Cunninghamella echinulata</i>	34359
<i>Cunninghamella elegans</i>	34337
<i>Cunninghamella elegans</i>	34345
<i>Cunninghamella homothallica</i>	34353 ^T
<i>Cunninghamella multiverticillata</i>	34351 ^T
<i>Cunninghamella phaeospora</i>	34338
<i>Cunninghamella phaeospora</i>	34339 ^T
<i>Cunninghamella polymorpha</i>	34346
<i>Cunninghamella septata</i>	34352 ^T
<i>Cunninghamella vesiculosa</i>	34348 ^T
<i>Dictyostelium clavatum</i>	34136 [*]
<i>Dictyostelium delicatum</i>	34137 [*]
<i>Dictyostelium exiguum</i>	34138 [*]
<i>Dictyostelium purpureum</i>	34139 [*]
<i>Dictyostelium purpureum</i>	34140 [*]

菌名	BCRC 編號
絲狀真菌	
<i>Linderina macrospora</i>	34427 [*]
<i>Linderina pennispora</i>	34168 [*]
<i>Metarhizium anisopliae</i>	34408
<i>Metarhizium anisopliae</i>	34409
<i>Metarhizium anisopliae</i>	34410
<i>Metarhizium anisopliae</i>	34411
<i>Metarhizium anisopliae</i>	34412
<i>Metarhizium anisopliae</i>	34414
<i>Metarhizium anisopliae</i>	34416
<i>Metarhizium anisopliae</i>	34417
<i>Metarhizium anisopliae</i>	34418
<i>Metarhizium anisopliae</i>	34421
<i>Metarhizium anisopliae</i>	34422
<i>Metarhizium anisopliae</i>	34423
<i>Metarhizium anisopliae</i>	34424
<i>Metarhizium frigidum</i>	34420
<i>Monascus purpureus</i>	34354
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	34460 [*]
<i>Penicillium calidicarium</i>	33728 ^{T*}
<i>Piptopezis debaryana</i>	34331 [*]
<i>Piptopezis tieghemiana</i>	34330 [*]
<i>Polysphondylium pallidum</i>	34141 [*]
<i>Polysphondylium violaceum</i>	34142 [*]
<i>Polysphondylium violaceum</i>	34143 [*]
<i>Ramicandelaber longisporus</i>	34378 ^T
<i>Ramicandelaber brevisporus</i>	34383 ^T
<i>Syncephalis obliqua</i>	34165 ^{T*}
<i>Umbelopsis angularis</i>	34449 ^T
<i>Umbelopsis autotrophica</i>	34450 ^T
<i>Umbelopsis autotrophica</i>	34451
<i>Umbelopsis fusiformis</i>	34452 ^T
<i>Umbelopsis gibberispora</i>	34453 ^T
<i>Umbelopsis isabellina</i>	34454
<i>Umbelopsis nana</i>	34456
<i>Umbelopsis ovata</i>	34455 ^T
<i>Umbelopsis ramanniana</i>	34457
<i>Umbelopsis swartii</i>	34458 ^T
質體	
pDG364	41819
選殖株	
pNDH10	43071
pNDH09	43072
pBCJ164.3	43073
宿主	
<i>Bacillus subtilis</i> NHD03	51978

T: 標準菌種; *: 本土菌種

新服務

利用 β -tubulin 基因序列分析鑑別釀酒、烘焙與保健食品產業用酵母菌菌群之學名生資中心／副研究員、資深研究員
黃建勳、李福臨

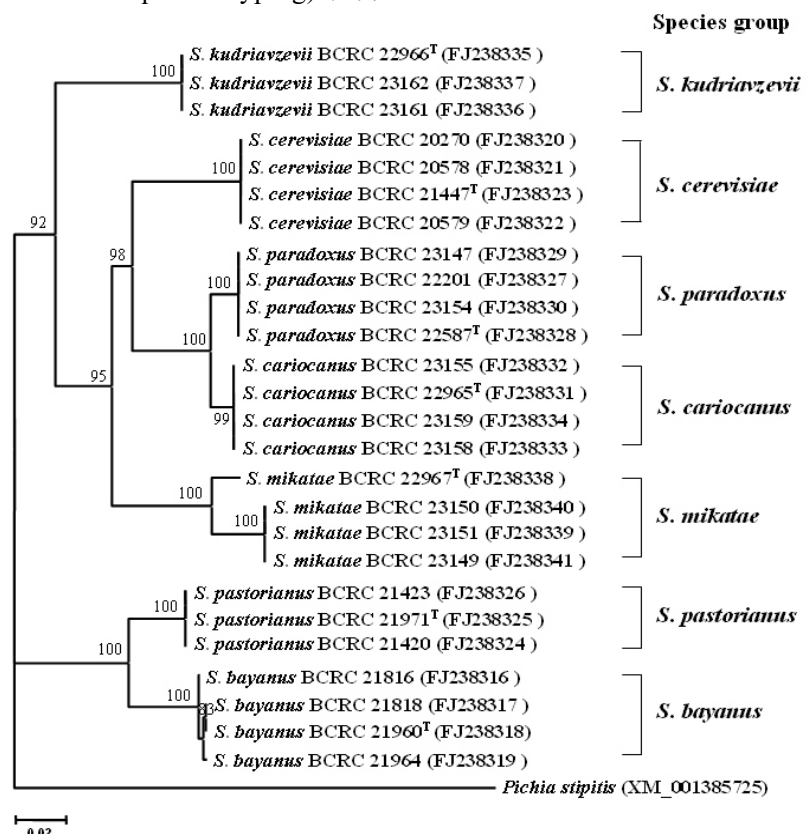
酵母菌為食品工業上重要的發酵菌，其中最著名的就是 *Saccharomyces cerevisiae*，不論是釀酒或烘焙產業上皆廣泛地使用，故又被稱為釀酒酵母或麵包酵母，除此之外，亦是熱門的保健食品產業用菌株。於1996年，*S. cerevisiae* 菌株S288C全基因體序列解碼完畢，成為第一個被完全定序的真核生物。因為具備許多研究優勢如便宜、易培養、生長期短和操作簡單等，故在現代分子和細胞生物學中被當作真核模式生物(model system)。與其類似菌種大都屬於 *Saccharomyces sensu stricto* complex (嚴格意義之 *Saccharomyces* 菌群)。然而，此 *Saccharomyces* 菌群之分類位置多變，自1912年至2000年之間，由最初的20個種合併成7個種(包括 *S. cerevisiae*、*Saccharomyces paradoxus*、*Saccharomyces bayanus*、*Saccharomyces pastorianus*、*Saccharomyces cariocanus*、*Saccharomyces mikatae* 及 *Saccharomyces kudriavzevii*)。導致該菌群演化地位如此龐大變動的原因，則是得力於分子分類學(molecular taxonomy)之進步。

傳統鑑定酵母菌的方法必須集合形態特徵、芽孢分生方式、理化特性或藉由篩選不同培養基來加以判別。但是這些表現型(phenotype)只反映出有限的遺傳信息，有些酵母菌細胞形態可以

改變，而且生理及生化特性(如糖類發酵及同化能力)也會發生變異。因此，若單純依靠個別表型性狀差異作為酵母菌之鑑別是極不可靠的。近年來分子生物學及基因體學蓬勃發展，利用DNA層次輔以傳統分類學方式已成為進行酵母菌鑑定之新興主流，目前鑑定酵母菌的分生技術包含有染色體DNA雜交、DNA指紋(RAPD, AFLP, SSR, DGGE, SSCP, RFLP)、專一性聚合酶連鎖反應(species-specific PCR, SS-PCR)及單基因或多基因片段序列(multilocus sequence typing)分析

等。上述分生技術中，唯有利用DNA雜交方式才能最正確決定菌株的學名，然而，該技術耗時、成本高與無法一次大量分析等缺點，則無法普遍的在一般實驗室應用。相較之下，SS-PCR最能符合簡單、快速、準確及低成本之水準，當前已有許多文獻針對 *Saccharomyces* 菌群開發種別鑑定之專一性引子，但由於該菌群之基因型(genotype)非常接近，造成種別引子不容易設計，所以也僅有三種專一性引子(*S. cerevisiae*, *S. bayanus*, *S. pastorianus*)成功發展⁽¹⁾，故SS-PCR技術目前仍無法達到一次同時鑑別該菌群的效果。

應用基因片段進行序列分析，依照鹼基變異形式作為探討微生物分類鑑定之依據是當前最新趨勢。以26S rRNA基因當作標的分析不同菌種間差異是酵母菌分類鑑定最常採用的方法(同種 $\geq$ 99%相似度)，然而，有些類緣演

圖1、*Saccharomyces* 菌群之-tubulin 基因演化樹。

化關係密切的酵母菌種，除了在表型性狀類似外，甚至連基因型(26S rRNA基因序列)也很相近。以 *Saccharomyces* 菌群為例，其26S rRNA基因序列相似度範圍高達97.5-100%，但DNA雜交試驗卻清楚證實為不同酵母菌種。 β -微管蛋白(β -tubulin)是真核細胞中蛋白纖維網路結構即細胞骨架(cytoskeleton)之基礎成分。 β -tubulin屬於持家基因(housekeeping gene)，其提供之演化訊息為18S rRNA之3.5倍，非常適用於分析基因型較為相近之菌群。目前在絲狀真菌分類研究上廣泛應用，因此， β -tubulin可作為酵母菌分類鑑定候選的理想演化標記(phylogenetic marker)。

生資中心接受酵母菌委託鑑定業務中，屬於 *Saccharomyces* 菌群相關菌種鑑定案件佔多數，由此可見這些菌種在產業上具有深厚的應用價值及開發潛力。由於它們面臨不易正確鑑別學名之問題，而造成應用上產生困擾，唯有開發快速又準確之菌種鑑定技術，方能解決誤用錯誤學名菌株的疑慮。生資中心以 β -tubulin基因序列分析及PCR-RFLP發展

Saccharomyces 菌群之菌種鑑定技術，研究結果顯示 β -tubulin基因平均序列相似度(90%)顯著低於26S rRNA(98.6%)，經由相鄰連接法(neighbor-joining)所重建之演化樹明顯呈現出7個種別群集(圖1)，此表示 β -tubulin基因在該菌群具有良好區分性。另外以限制酶 *Tsp509I* 分析 β -tubulin基因片段，每個菌種皆能產生獨特

之種別專一性圖譜(圖2)。綜合以上結果，應用 β -tubulin基因序列能夠同時正確迅速鑑別 *Saccharomyces* 菌群⁽²⁾。

參考文獻

1. C. H. Huang, F. L. Lee, C. J. Tai, *J. Microbiol. Methods*. 75, 531 (2008).
2. C. H. Huang, F. L. Lee, C. J. Tai, *Antonie Van Leeuwenhoek*. 95, 9296 (2009).

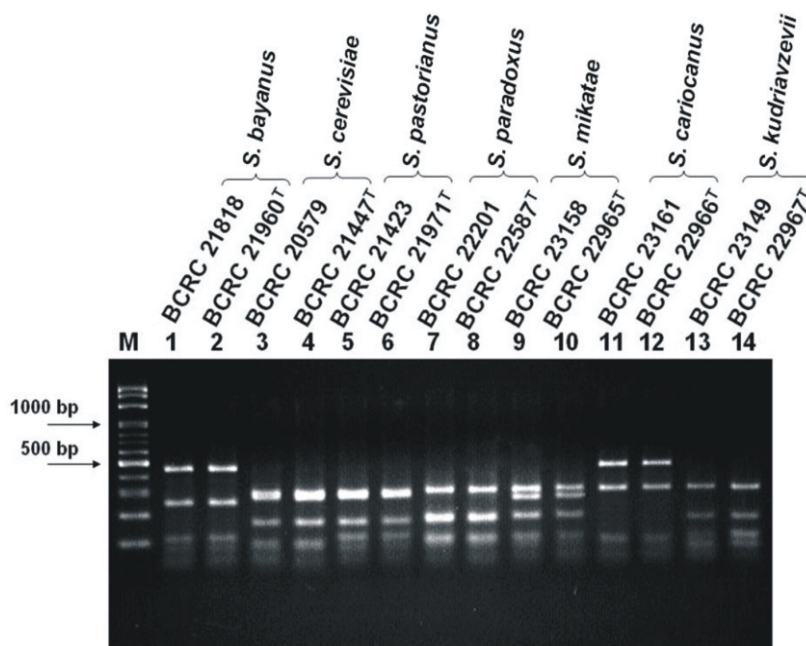


圖2、以限制酶 *Tsp509I* 進行 *Saccharomyces* 菌群 β -tubulin 之 RFLP 分析。

中心公告

財團法人食品工業發展研究所執行經濟部相關計畫，本中心於97年度有多項技術項目可提供技術移轉，在「生物資源之創新增值與開發應用四年計畫」下技術項目分別為(1)抗癌活性與荷爾蒙調控活性細胞篩選系統(III)；(2)造血幹細胞多樣性應用之研發--血小板前驅細胞的體外無血清誘導與增殖；(3)脂溶性高抗氧化物質固脂粒產

品之生產技術；(4)生產肉鹼之微生物及其發酵技術；(5)生產肉鹼之微生物及其發酵技術；(6)微生物機能性產品之開發技術；(7)台灣本土污水溪真菌發酵庫；(8)台灣本土類酵母真菌多樣化發酵庫；(9)新種放線菌FIRDI 001及其生產抗菌物質之技術；(10)微生物菌種改良技術；(11)微生物及其衍生產品之發酵製程技術，部分技術內容將在78期簡訊做詳細之介紹

植物內生性放線菌

生資中心／研究員
曾敏

I. 前言

植物內生菌(plant endophyte)最早由Unger在1937所提出，當時視為植物內部寄生的病原真菌。之後的研究發現，植物內生菌是植物微生物生態系統的一部份，在健康植物的根、莖、葉、花、果實均可發現微生物，這些微生物的代謝產物可以促進宿主植物適應外界的各種壓力，維持生態系統平衡。

因為內生性微生物原來就與植物共生於體內，因此較容易在植物體內定著、發揮作用，而放線菌具有產生各種具生理活性的化合物，包括抗細菌、抗真菌、抗線蟲等，所以內生放線菌極具做為生物防治的潛力。放線菌在自然界與植物的關係非常密切，這種內生性微生物通常為伺機性腐生菌，很少為病原菌⁽¹⁾。放線菌可以產生化學結構及功能多樣的次級代謝產物，在醫藥業及各種領域均扮演重要的角色，而相形之下，內生性放線菌直到最近才受到矚目，也才逐漸被開發應用，包括用於植物病原真菌的生物防治、抗痢疾藥物、抗微生物藥物、抗腫瘤藥物、植物生長調節劑、酵素。

II. 植物內生性放線菌的定義

有關內生性微生物的定義很多，迄今尚無一個大家都能接受

的定義，從廣義的認為「所有的微生物在其生活史的某個階段生活於植物體內，都可以稱為內生微生物(endophytic microbes)，包括細菌、真菌及放線菌」；到各種不同範圍的定義。Hallmann等人則定義為，不會對植物造成明顯的傷害，而且可以從表面消毒的植物體或萃取物分離。內生微生物與菌根菌(mycorrhizae)及固氮細菌(nitrogen-fixing bacteria)的區別在於菌根菌會在植物根外部產生菌絲，而固氮細菌 *Rhizobium* 會在植物根部形成根瘤，這些都不屬於內生性微生物。要如何證明屬於真正內生性，Rosenblueth and Martinez-Romero⁽²⁾認為應該要能直接看到植物體內的菌體，Sardi等人以掃描式電子顯微鏡觀察到蕃茄根部皮質層有鏈黴菌的菌絲，但無法獲得菌株與寄主的關係。Yoshida and Yamaguchi也觀察到香瓜根部的病原菌 *Streptomyces* sp.。Kamuntun and Suga以穿透式電子顯微鏡觀察在香瓜根部腫瘤細胞的鏈黴菌。Okazaki分別以光學顯微鏡及掃描式電子顯微鏡觀察植物表皮組織內外 *Microbispora* 的孢子柄(sporophore)。

植物因為生長環境的差異，導致內生微生物也有很大的歧異性，植物內部無論在生物學或微生物生態均迥異於陸地環境，因為含有各種生物鹼(alkaloids)、類(terpenoids)、固醇類(steroid)蒽

芳香類化合物(aromatic compound)，因此健康的植物器官是未經開發利用的內生微生物寶庫。有些內生微生物會產生特別的生理活性物質，除了保護植物免於細菌、真菌、昆蟲、哺乳類的侵害，有些生理活性物質還與寄主植物的抗腫瘤化合物有關。雖然內生性微生物在很早以前就被發現，但直到約20年前才真正受到注意，主要是發現內生性微生物可以保護寄主植物不受昆蟲、病原菌甚至草食性家畜的侵害，經過更進一步的研究發現，內生性微生物還可使寄主植物對惡劣環境更具抵抗性、改變生理特性、產生植物荷爾蒙及其他代謝產物，除了這些經濟上的效益之外，研究學者更有興趣的是新種微生物的發現。

III. 內生性放線菌的應用

除了 *Frankia* 可以與植物共生產生根瘤外，少數放線菌亦能造成植物病害，例如 *Streptomyces scabies*, *S. acidiscabies*, *S. turgidiscabies* 引起馬鈴薯瘡痂病(Potato scab)。*Frankia* 與植物的共生被研究很多，也有實際的應用。而其他存在植物體內的放線菌尚未被研究，Sardi *et al.* 曾報告從義大利的作物根部及野生植物分離 *Streptomyces* sp.；de Araujo *et al.* 從玉米的葉及根部分離到 *Microbispora*, *Streptomyces* 及 *Streptosporangium*；Okazaki *et al.* 發現 *Microbispora* 從葉片分離的比率高過從土壤的比率。Coombs and Franco 從健康小麥的根部分離不具病原性的放線菌，分屬於 *Streptomyces*, *Microbispora*, *Mitromonospora* 及 *Nocardiodetes*。

無論從小麥根部、作物、野生植物所分離的內生性放線菌，都

是以*Streptomyces*居多，但從玉米的根部所分離的內生性放線菌，以*Microbispora*最多，其次是*Streptomyces*及*Streptosporangium*。而*Micromonospora*出現的頻率高於一般土壤，推測可能與*Micromonospora*容易寄生於病原真菌*Pythium*、*Phytophthora*有關。

Igarashi等人從杜鵑花分離到的一株鏈黴菌，可以產生抗真菌的物質fistupyrone。Uvidelio等人從澳洲的藥用植物千金藤(*Kennedia nigricans*)分離的鏈黴菌*Streptomyces* sp.，所產生的次級代謝產物munumbicin A, B, C, D，是一種廣效性的抗生素，可以有效抑制抗藥性的肺結核桿菌(*Mycobacterium tuberculosis*)及金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)。對許多真菌性植物病原菌亦有很好的抑制作用可，例如*Pythium ultimum*，*Phytophthora*

infestans，*Penicillium* sp.，*Sclerotinia sclerotiorum*，*Erwinia carotovora*，*Cochliobolus carbonum*(表1，2)，效果甚至比市售的放線菌製劑Mycostop™好，因此極具開發為微生物製劑的潛力。Pullen等從*Mayta aquifolia*，*Putterlickia retrospinosa*及*P. verrucosa*分離到*Streptomyces setonii*及*Streptomyces sampsonii*。*S. sampsonii*可以產生chloropyrrole及chlorinaed anthracyclinone，對於多重抗藥性細菌及分枝桿菌有很的抑制作用。Stamford等人從玉米葉片分離到可以產生高量葡萄糖澱粉酶的內生性放線菌*Streptosporangium* sp. El-Shatoury等人從埃及的藥用植物*Artemisia herba-alba*，*Echinops spinosus*，*Mentha longifolia*，*Ballota undulate*，分離41株內生性放線菌，大多數菌株屬於

Streptomyces sp. (41.5%)，81%的菌株具有抗菌活性⁽³⁾。從植物分離的一株鏈黴菌*Streptomyces hygroscopicus* S-17對蕃茄的成長有明顯幫助，所產生的代謝產物pteridic acid A可以促進kidney bean及煙草組織培養根的形成。

有關內生性微生物可以保護寄主植物免於昆蟲的侵害，最早的研究始於1980年代，Webber發現內生性真菌*Phomopsis oblonga*可以保護榆樹免於甲蟲(*Physocnemum brevilineum*)危害，而這種甲蟲是荷蘭榆樹病原菌*Ceratocystis ulmi*的媒介昆蟲，當時推測內生真菌*Phomopsis oblonga*所產生的化合物對甲蟲有毒殺作用，這個推論後來獲得印證。

IV.內生性放線菌的分離

放線菌以分解環境中的有機質為養分，行腐生方式存在各種環境中，包括土壤、根圈、湖河底泥。早在19世紀就發現有些放線菌與活的植物有很密切的關係。1886年首先從非豆科植物根瘤分離到*Frankia*，確認具有與*Rhizobium*一樣具有固氮的作用。1890年首次發現引起馬鈴薯瘡癰病的*Streptomyces scabies*，而此菌株除了在馬鈴薯發現外，也同時存在土壤中，是屬於土壤性及內生性的放線菌。Hasegawa等人從植物葉片分離到一個新屬*Actinosynnema*，此菌屬與植物的關係尚不清楚。之後陸續有許多從植物分離的放線菌，包括寄生、腐生、共生，而菌株的種類以*Streptomyces*，*Microbispora*最多。Coomb and Franco從健康植物根部組織分離38株放線菌，屬於*Streptomyces*，*Microbispora*，

表1、Munumbicin A-D對植物病原真菌及人類病原細菌的最低抑制濃度(MIC)⁽⁷⁾

Test organism	MIC (µg ml ⁻¹)			
	Munumbicin A	Munumbicin B	Munumbicin C	Munumbicin D
<i>Pythium ultimum</i>	2.0	0.2	4.0	0.4
<i>Rhizoctonia solani</i>	—	8.0	1.5	15.6
<i>Phytophthora cinnamomi</i>	—	6.2	1.5	15.6
<i>Geotrichum candidum</i>	—	31.2	15.6	31.2
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	8.0	0.20	8.0	2.0
<i>Pseudomonas syringae</i>	15.6	2.0	15.6	0.2

—, Activity not determined.

表2、Munumbicins及標準抗生素對細菌的抑制作用⁽⁷⁾

Bacterium tested ^a	Diameter of inhibition zone (mm)					
	Mun. A	Mun. B	Mun. C	Mun. D	Ciprofloxacin	Vancomycin
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853	R	R	R	R	30	—
<i>Vibrio fischeri</i> PIC 345	R	16	9	12	—	—
<i>Enterococcus faecalis</i> 29212	R	18	R	16	—	18
<i>Staphylococcus aureus</i> 29213	R	15	R	13	—	15
<i>Acinetobacter</i> sp. 49137 (grown at 30 °C)	R	R	R	R	29	—
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> 49226†	9	14	8	9	—	13
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 49619‡	R	17	7	16	—	20
<i>Bacillus anthracis</i> K8902	9.5	18	R	—	16	—
<i>Escherichia coli</i> 25922§	R	R	R	R	—	—

^a The number after the bacterial name is the ATCC or Presque Isle (PIC) acquisition number.

†GC agar with 1% growth supplement, with 5% CO₂.

‡MHA with 5% defibrinated sheep's blood and 5% CO₂.

§Resistant to penicillin G applied at 10 units per disk.

—, Not determined; R, resistant.

Micromonospora, *Nocardia*。Okazaki從植物分離到246株放線菌，97株屬於*Streptomyces*，57株屬於*Microbispora*，23株屬於*Nocardia*，18株屬於*Micromonospora*，4株屬於*Actinomadura*。Takahashi and Omura從9屬高等植物的落葉，分離到32株*Streptomyces*，33株*Micromonospora*，10株其他的稀有放線菌。Rosenblueth and Martinez-Romero也提到8個與植物相關的菌屬，包括*Arthrobacter*, *Curtobacterium*, *Kocuria*, *Nocardia*, *Streptomyces*。根據調查幾乎所有的微管束植物內均可發現內生性放線菌，放線菌普遍存在植物的任何部位，而以根部最多，而放線菌與植物的關係尚不清楚。

內生性放線菌的多樣性主要與分離方法有關，從16S RNA的分析顯示，從小麥根部所分離的放線菌，比培養的內生性放線菌，具有更高的歧異性⁽⁴⁾。以不同的培養基分離植物內生性放線菌，結果顯示以MGA-PE，SC，1/10SC及TWYE可以成功地分離到內生性放線菌，而又以1/10SC及TWYE的效果最好(圖1)，推測營養成分低的培養基可以抑制細菌及真菌的生長，使得分離到放線菌的機率提高，在分離土壤及石頭時亦有相同的情形⁽⁵⁾。由於植物組織含有很多微生物，因此適當的稀釋有助於降低細菌及真菌的干擾。根據統計，內生放線菌的數量約 10^2 - 10^3 cfu/g。Coombs and Franco的研究顯示，年輕的植株及營養缺乏的培養基較易分離到內生性放線菌，有別於內生性真菌容易在較老的植物組織發現。表面消毒是必須的，除了除去附著於表面的細菌、真菌外，亦能排除表面的

放線菌，如此才能獲得真正的內生性放線菌。

V. 結語

截至目前為止，關於內生性放線菌的可能應用，包括抗蟲、抗病、促進植物生長、增加植物耐旱性等(圖2)，相關的研究尚處於起步的階段，但隨著越來越多的新種及新活性物質的發現，將帶動內生性微生物研究的風潮，而藥用植物是尋找內生性微生物的重要目標，其目的是希望從內生性微生物發現是否能產生相同的藥效化合物。

參考文獻

- 1.Y. Igarashi, *Actinomycetologica* 18, 63 (2004).
- 2.M. Rosenblueth, E. Martinez-Romero, *Mol. Plant-Microbe Interact.* 19, 827 (2006).
- 3.S. El-Shatoury, H. Abdulla, O. El-Karaaly, W. El-Kazzaz, A. Dewedar, *Egypt. Int. J. Bot.* 2, 307 (2006).
- 4.Coombs, J. T., P. P. Michelsen, M. M. Franco, *Biol. Control* 29, 359 (2004).
- 5.E. May, S. Papida, H. Abdulla, Metropolitan Museum of Art, N. Y., pp: 452 (2005).
- 6.S. Hasegawa, A. Meguro, M. Shimizu, T. Nishimura, H. Kunoh, *Actinomycetologica* 20,72 (2006)
- 7.U. F. Castillo *et al.*, *Microbiology* 148, 2675 (2002).

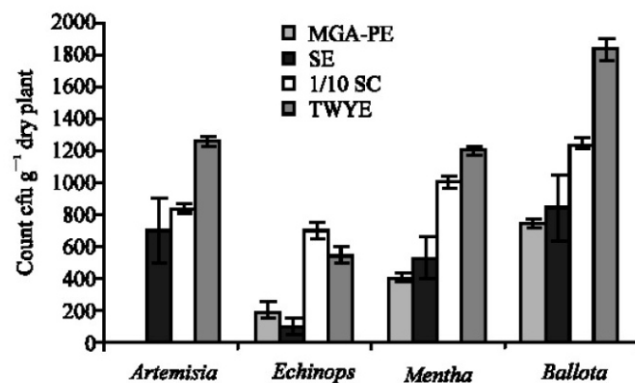


圖1. 不同培養基對內生性放線菌分離的效果⁽³⁾

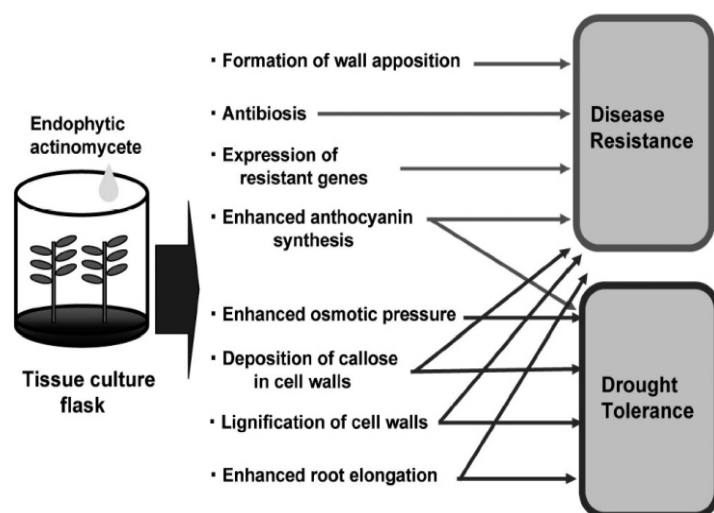


圖2. 內生性放線菌的可能性應用⁽⁶⁾

致病性退伍軍人菌

生資中心／副研究員
林詩婷

I. 退伍軍人菌之分類學介紹

退伍軍人菌隸屬於 *Proteobacteria* 門、*Gammaproteobacteria* 綱、*Legionellales* 目、*Legionellaceae* 科，*Legionellaceae* 科僅有單一 *Legionella* 屬，目前 *Legionella* 屬有50個種。*Legionella* 屬為一群嗜中溫性(mesophilic)、非糖發酵(asaccharolytic)、絕對好氧及對養分挑剔的革蘭氏陰性菌，其細胞膜的分支脂肪酸(branched-chain fatty acid)與一般的革蘭氏陰性菌有很大的差異，oxidase與catalase呈弱陽性，gelatinase為陽性且具有運動性，其G+C含量為38-52%。由於 *Legionella* 屬菌株是一群細胞內寄生菌，因此不帶有醣類利用基因，胺基酸是主要能量來源，生長需要L-cysteine，另外鐵離子可增進其生長。研究顯示退伍軍人菌普遍存在水環境中，從各式各樣水環境樣品中，各種退伍軍人菌有被分離出之紀錄，其中1/3的菌株有從人體與環境中分離之紀錄，具有致病性，因此科學家推論人類對退伍軍人菌而言只是伺機性的宿主。另外學者指出環境中之 *L. pneumophila* 亦能寄生於數種阿米巴原蟲體內，造成 *L. pneumophila* 殺菌不易，容易有抗藥性的產生⁽¹⁾。

II. 退伍軍人菌流行病學之調查

退伍軍人菌首次被認定為臨床醫學重要致病菌是在一九七六年夏天，美國退伍軍人在費城慶祝獨立200週年時，不幸發生急性肺炎之流行，當時造成221人罹病，34位患者死亡而受到重視，經由美國疾病管制中心分離及鑑定，致病菌為革蘭氏陰性桿菌的嗜肺性退伍軍人菌。事實上，早在一九四三年，退伍軍人菌已被多次培養出，當時被命名為類立克次菌(*Rickettsia*-like organism)，在1957年也曾有退伍軍人菌感染之流行病學紀錄。

退伍軍人菌常藉著吸入被污染的水而感染，如供水系統之冷熱水管線、水龍頭、蓮蓬頭等淋浴設備、冷卻水塔之蓄水槽及其管線、人造噴泉、各類SPA設施、展示場之噴霧器、溫泉浴池、呼吸輔助醫療裝置等人造設施，這些設施提供溫暖潮濕的環境供該菌繁衍，而其所散播之帶菌懸浮微粒，致使退伍軍人菌侵入人體機率大為提升。衛生署前預防醫學研究所曾在全國主要車站、醫院、餐廳、戲院等218個場所，針對冷卻水、水龍頭、飲水機等，採集1,592件樣本進行檢驗，檢出退伍軍人菌的陽性率高達19.7%⁽²⁾。由於嗜肺性退伍軍人菌為一伺機性感染細菌，研究顯示年齡越大(大於50歲)、吸煙

者、慢性疾病、惡性腫瘤患者，以及免疫能力受損的人更容易罹患退伍軍人病。此外，暴露型態與暴露強度如：污染水霧能被吸入的程度、宿主暴露在污染水霧的親近程度、宿主的易感性及菌株的毒性等，在致病機轉中亦扮演相當重要的角色⁽³⁾。

目前對於吸入多少量的細菌才會造成人體感染或死亡並不清楚，僅有動物實驗顯示約10-500個退伍軍人菌即能造成動物感染，而10⁴-10⁵個的退伍軍人菌就能致死。另外研究亦指出當退伍軍人菌寄生於阿米巴原蟲中，其對細胞或動物之毒素可能會被刺激而增加；或者感染退伍軍人菌時，細菌菌體是呈孢子相似體(spore-like form)，若吸入之退伍軍人菌處於這兩種狀態下，則感染之菌數可能會更低即有相同之致病能力⁽⁴⁾。

III. 感染退伍軍人菌之臨床症狀

退伍軍人病傳播途徑主要是人體吸入或嗆入受污染之氣霧或水，細菌從呼吸道進入並積聚於肺部而引起。感染退伍軍人菌後會引起兩種流行病學上完全不同的臨床症狀，分別為退伍軍人病(LD)及龐提亞克熱(Pontiac fever)。患者多半會出現類流感症狀，其中退伍軍人病與一般肺炎很難區分，潛伏期通常在2-10天，但於免疫不全的病人，甚有達3星期之久。典型的退伍軍人病，初期症狀有，發燒、頭痛、厭食、身體不適、胸痛，體溫通常高達40℃，患者胸部X光會出現肺部實質化浸潤，嚴重時可出現呼吸衰竭。退伍軍人病對於一般人，其侵襲率約在0.2~7%；若為住院患者，侵襲率則提高至0.4~14%，致死率約為0~

20%，但免疫機能障礙的患者，死亡率高達50%。龐提亞克熱的潛伏期則較短，通常在36-48小時內，初期臨床症狀與退伍軍人病相似但較輕微，通常不會引起肺炎或死亡，雖然侵襲率可高達95%，但病患通常在一星期內可自行痊癒⁽⁴⁾。

目前對於退伍軍人菌之致病機制的了解為，當吸入的退伍軍人菌到達肺部後，菌體會被肺部的巨噬細胞吞噬，正常狀況下微生物會在巨噬細胞中被分解，但退伍軍人菌會藉由控制內吞囊泡(endosome)與酵素囊泡(lysosome)之融合，避免菌體被酵素囊泡中的殺菌物質分解。根據研究指出，若是經由突變造成退伍軍人菌無法控制囊泡，則對生物喪失感染能力，因此可確定控制內吞囊泡的路徑是退伍軍人病桿菌感染的關鍵步驟。研究亦指出退伍軍人菌會釋放一些細菌蛋白干擾內吞囊泡的運送途徑，這些細菌蛋白會將內吞囊泡導向營養豐富的內質網，令退伍軍人菌能在巨噬細胞中大量複製繁殖並對細胞進行破壞^(5,6)。

IV. 致病性退伍軍人菌簡介

目前從人體出的培養出之退伍軍人菌目前有20種，其生理生化特徵如表一所示⁽⁷⁾，其中重要的退伍軍人菌分離株有 *Legionella pneumophila*、*L. micdadei*、*L. Longbeachae*與 *L. dumoffii*，而由 *L. pneumophila* (嗜肺性退伍軍人菌) 所造成之退伍軍人症(LD, Legionnaires' disease)佔全部之90%。最近有一類 *Legionella-like amoebal pathogen* (LLAP) 被陸續分離出來，這是一群類似 *Legionella*，但只能生存於活的阿米巴原蟲中的微生物，由於可造

成人類疾病因此被注意⁽⁸⁾。以下挑選幾個較重要的致病株進行介紹：

1. 嗜肺性退伍軍人菌 (*L. pneumophila*)

由於 *L. pneumophila* 是其中最重要之致病株，因此對 *L. pneumophila* 之研究較清楚。*L. pneumophila* 最適合生長的溫度在35-37°C，培養時增加溼度與給予25%之二氧化碳會使 *L. pneumophila* 生長的更好。目前已知 *L. pneumophila* 有3個亞種，16個血清型，第一型和第六型為人體重要致病菌，亦為重要院內感染菌(Nosocomial *Legionella*)。通常以細菌脂肪酸組成是無法區分 *L. pneumophila* 與 *L. longbeachae*。在一項分析中指出 *L. pneumophila* 依去氧核糖核酸(DNA)之不同，被分為3個亞種。

(1) *L. pneumophila* subsp. *pneumophila*

包含血清型110之嗜肺性退伍軍人菌，這一群菌具有水解馬尿酸鹽(sodium hippurate)之能力。

(2) *L. pneumophila* subsp. *fraseri*

包含血清型1、4、5跟Lansing 3之嗜肺性退伍軍人菌，其中僅有血清型1、5之嗜肺性退伍軍人菌具有水解馬尿酸鹽之能力。

(3) *L. pneumophila* subsp. *pasculli*

具有水解馬尿酸鹽之能力。目前 *L. pneumophila* subsp. *pasculli* 僅有從醫院的供水系統中分離出，尚未有從人體分離出之紀錄。

2. *L. anisa*

L. anisa 具有自發性藍白色之螢光，不具有水解馬尿酸鹽之能

力。抗原抗體檢測時 *L. anisa* 常會與 *L. longbeachae* 與 *L. bozeman* 有交叉作用產生。

3. *L. bozeman*

L. bozeman 具有自發性藍白色之螢光，不具有水解馬尿酸鹽之能力。*L. bozeman* 有2個血清型，檢測時會與 *L. longbeachae*、*L. jordanis* 與 *L. gratiana* 有交叉作用。脂肪酸組成上，*L. bozeman* 無法與 *L. micdadei*、*L. dumoffii* 或 *L. gormanii* 區分開。

4. *L. dumoffii*

L. dumoffii 具有自發性藍白色之螢光，不具有氧化酶及水解馬尿酸鹽之能力。檢測時 *L. dumoffii* 會與 *L. pneumophila* 血清型VII有交叉作用。脂肪酸組成上，*L. dumoffii* 無法與 *L. micdadei*、*L. bozeman* 或 *L. gormanii* 區分開。

5. *L. longbeachae*

L. longbeachae 不具有自發性螢光及水解馬尿酸鹽之能力。以細菌之脂肪酸組成是無法區分 *L. longbeachae* 與 *L. pneumophila*。*L. longbeachae* 有2個血清型，檢測時會與 *L. jordanis* 有交叉作用。

6. *L. lytica*

L. lytica 是一株絕對細胞內寄生細菌，從痰及肺部之檢體，同時與阿米巴原蟲被分離出，其主要宿主為阿米巴原蟲，目前無法將 *L. lytica* 培養於培養基上，因此對於 *L. lytica* 的基本生理生化特性，研究人員無法由實驗獲得。

7. *L. micdadei*

L. micdadei 不具有自發性螢光及水解馬尿酸鹽之能力。檢測時少與其他菌有交叉作用產生。脂肪酸組成上，*L. micdadei* 無法與 *L.*

bozemaniae、*L. dumoffii*或 *L. gormanii*區分開。

V. 結語

退伍軍人菌的鑑定，最終依據仍需分離出菌體，再根據菌株的生理特性給予正確學名。由上述致病性退伍軍人菌特性看來，鑑定所利用的抗原抗體反應，經常遭遇交叉作用之影響，而一般生理生化試驗對鑑定之幫助有限，因此若想準確地鑑定各種致病退伍軍人菌，勢必要發展其他專屬之試驗。近年來科學家們已積極發展PCR相關鑑別方式，希望達到快速且精準的目標，但研發之產品尚未成熟，還未能取代傳統培養方式，因此需要更多的努力來達成這各目標⁽⁹⁾。目前生資中心所執行之退伍軍人菌分離檢測，主要分析各式水樣品檢體，以傳統培養方式配合抗原抗體分析與生理生化特性鑑定退伍軍人菌，並於2008年通過TAF認證，提供客戶值得信賴之檢驗報告。

參考文獻

- 1.R. Patrick, in *Manual of clinical microbiology*, 9th ed. (ASM Press. Washington, D.C. 2007), pp. 835-849.
- 2.T. M. Pan, *National Institute of Preventive Medicine*, 55 (1998)
- 3.O. C. Tablan, *Guidelines for environmental infection control in health-care facilities*. United States Center for Disease Control and Prevention. 25, 68 (2003)
- 4.J. Bartram, *Legionella and the prevention of legionellosis*. WHO. (2007)
- 5.A. Ingmundson, *Nature*. 450, 365 (2007)
- 6.X. Pan, *Science*, 320, 1651 (2008)
- 7.G.M Garrity, in *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2nd ed. (Springer. Michigan state. USA. 2005.), pp. 210-214.
- 8.A. A Adeleke, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51, 1151 (2001)
- 9.E. Dusserre, *Appl Environ Microbiol.* 74, 4817 (2008)

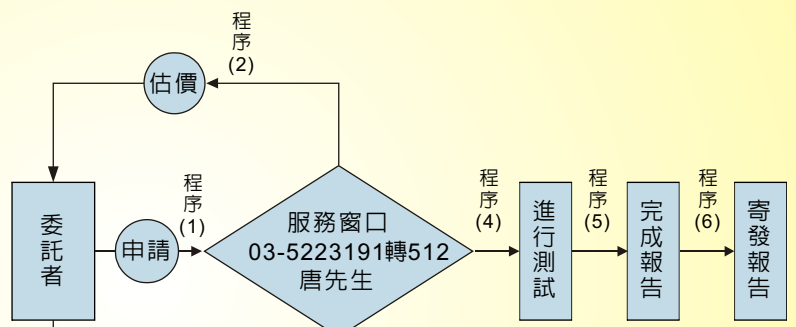
表1、致病性退伍軍人菌部分生理生化特性⁽⁷⁾

Characteristic	<i>L. anisa</i>	<i>L. birnbaumensis</i>	<i>L. bozemaniae</i>	<i>L. cincinnatiensis</i>	<i>L. dumoffii</i>	<i>L. feelei</i>	<i>L. gormanii</i>	<i>L. hackeliae</i>	<i>L. jordanis</i>	<i>L. Lansingensis</i>	<i>L. longbeachae</i>	<i>L. lytica</i>	<i>L. maceachernii</i>	<i>L. micdadei</i>	<i>L. oakridgensis</i>	<i>L. parisiensis</i>	<i>L. pneumophila</i> subsp. <i>pneumophila</i>	<i>L. pneumophila</i> subsp. <i>fraseri</i>	<i>L. pneumophila</i> subsp. <i>pascallei</i>	<i>L. saintetensi</i>	<i>L. tucsonensis</i>	<i>L. wadsworthii</i>
Gram reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid-fastness	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth on:																						
BCYE-α agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Blood agar with rypitase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
soy base	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth requirement for L-cysteine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Browning of tyrosine-containing media	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+		+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
Acid from carbohydrates	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrate to nitrite	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hippurate hydrolysis	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	+	-	-	-	-
Gelatin liquefaction	+	+	+	+	+	±	+	+	+	-	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
β-lactamase production	+	+	±	+	-	+	+	+	+	±	-		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase	+	±	±	-	-	-	+	+	+	+	+		+	+	±	±	±	±	±	±	+	-
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
autofluorescence	B W	-	B W	-	B W	-	B W	-	-	-	-		-	-	-	B W	-	-	-	-	B W	-

BW：具自發性藍白色螢光。 NA：無相關資料。

中心公告

本所生資中心於96年10月24日通過TAF全國認證基金會測試領域實驗室認證(認證編號為1865)，符合ISO/IEC 17025:2005國際標準，獲得認證實驗室之測試範圍為抗菌試驗及微生物基因突變分析共8項。並於97年12月新增認證之測試範圍為水樣品之退伍軍人桿菌檢測方法。申請該項試驗服務，請參考下列說明，或聯繫服務窗口03-5223191轉512唐先生。



委託程序

- (1) 委託者向生資中心提出委託申請文件及樣品。
- (2) 生資中心依據委託者之申請，提供估價。
- (3) 委託者完成付款。
- (4) 生資中心依據委託申請內容，進行試驗。
- (5) 完成試驗，撰寫及審核報告。
- (6) 以掛號方式寄發報告給委託者。

審定公告之專利寄存生物材料

資料範圍自 97 年 12 月至 98 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
氨基葡萄糖苷抗性基因之用途/I304094	鼠骨髓瘤細胞系NSO (Murine myeloma cell line NSO) 6A1-Neo	960178	隆沙生化公開有限責任公司(英國) / 摩哈曼德.亞爾-盧比埃(英國)
生產膠原蛋白之表現系統 / I304442	果蠅 S2 細胞(Drosophila Schneider S2) DS2/p4H/mC21	960245	財團法人工業技術研究院
抗過敏性用劑、減輕過敏性/I304736	發酵乳酸桿菌(<i>Lactobacillus fermentum</i>)CP-34	910229	可爾必思股份有限公司(日本)
茶胺酸之製造方法/I307363	<i>Pseudomonas citronellolis</i> GEA	910235	太陽化學股份有限公司(日本)
胎盤幹細胞及製備方法/I307717	胎盤衍生多功能性幹細胞 (<i>Placenta-derived multipotent cell</i>)PDMC	960221	財團法人國家衛生研究院

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

資料範圍自 98 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
新穎-半乳糖 酶200846472	凝固芽孢桿菌(<i>Bacillus coagulans</i>)AKC-004	910388	旭化成化學股份有限公司(日本)
海洋放線菌及其應用 /200900503	天藍色鏈黴菌(<i>Streptomyces coelicolor</i>) ACT-40	910347	國立海洋生物博物館
	天藍色鏈黴菌(<i>Streptomyces coelicolor</i>) ACT-67	910348	
新穎乳酸菌株、發酵飲品及製造方法/200904976	戊糖乳桿菌(<i>Lactobacillus pentosus</i>)KB612	910394	可果美股份有限公司(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77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)5223191-6

傳真：(03)5224171-2

承印：彥光打字印刷商行

電話：(03)5301116

ISSN:1021-7932

GPN:2009001214

中華郵政新竹誌字第0030號

交寄登記證登記為雜誌交寄

