

財團法人食品工業發展研究所

第 81 期

# 生物資源保存及研究簡訊

第23卷第1期

中華民國99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

- ◎ 本所生資中心參加全球生物資源中心網絡計畫會議與國際各資源中心進行合作及交流

### 研發成果 2

- ◎ 新服務
  - 生物資源網路購物車與線上交易服務
- ◎ 新資源
- ◎ 新技術
  - 利用 dnaK基因序列分析鑑別產業用植物乳酸桿菌群之學名

### 知識專欄 5

- ◎ 真菌命名之有效發表、正當發表及命名模式
- ◎ 海洋微生物天然產物之研究
- ◎ 酵母菌分生鑑定之最新發展趨勢

### 專利微生物 12

- ◎ 審定公告之專利寄存生物材料

## 本所生資中心參加全球生物資源中心網絡計畫會議與國際各資源中心進行合作及交流



▲GBRCN計畫會議部分與會人士合照。 (圖：GBRCN計畫秘書處)

本中心陳玉芬管理師於今年二月底赴德國，參加全球生物資源中心網絡(Global Biological Resource Center Network, GBRCN)計畫會議，並於會議中進行簡報，介紹台灣生物資源中心 (Biological Resource Center, BRC) 的活動，以及表達本中心加入GBRCN的意願。

Biological Resource Centres Underpinning the Future of Life Sciences and Biotechnology (2001)及Best Practice Guidelines for BRCs (2007) 等二出版物是OECD-BRC推動計畫的前二期工作成果。接續前二期工作，GBRCN計畫目標在於促進合法的生物資源與資訊的流通，期望可建立BRC之間提供資源與服務的高速公路。為了這個目標，除了應建置資訊交換系統外，會員BRC必須建立共同可接受的品質標準，以確保會員所提供的產出有一定的可信度。

本次會議共有46位來自16個國家的與會者，議題包括：擴大參與、資訊、品質、生物安全與保全、GBRCN的組織及經營策略。會議多著重於目標的設定，以及與相關計畫的競合及定位討論。就GBRCN的組織，該計畫提出全球生物多樣性資訊機構(Global Biodiversity Information Facility, GBIF)模式的構想，將GBIF在資訊層次的國際合作模式應用在生物資源層次，由政府層級參與並組成理事會，各國BRC則屬會員身份。為確保高品質的服務及資源、符合生物安全與保全的要求、提高資源流向的透明度，執行OECD-BRC-推動計畫第二期工作產出的Best Practice Guidelines是所有會員BRC的基本要求。

本中心將與該計畫保持合作關係，以提供國人更有效率的服務與多元的資源，並為全球生物技術發展共同努力。本次會議的與會人員對本中心的人力、設施、研發的多樣化，給予高度肯定。透過本次會議，本中心得到更多參與後續合作交流活動的機會，包括：受GBRCN計畫秘書處邀請參加後續計畫及會議、受世界菌種聯盟邀請派員競選世界菌種聯盟理事、和與會菌種中心人員討論未來合作交流的可能性。

(文：生資中心 陳玉芬 管理師)

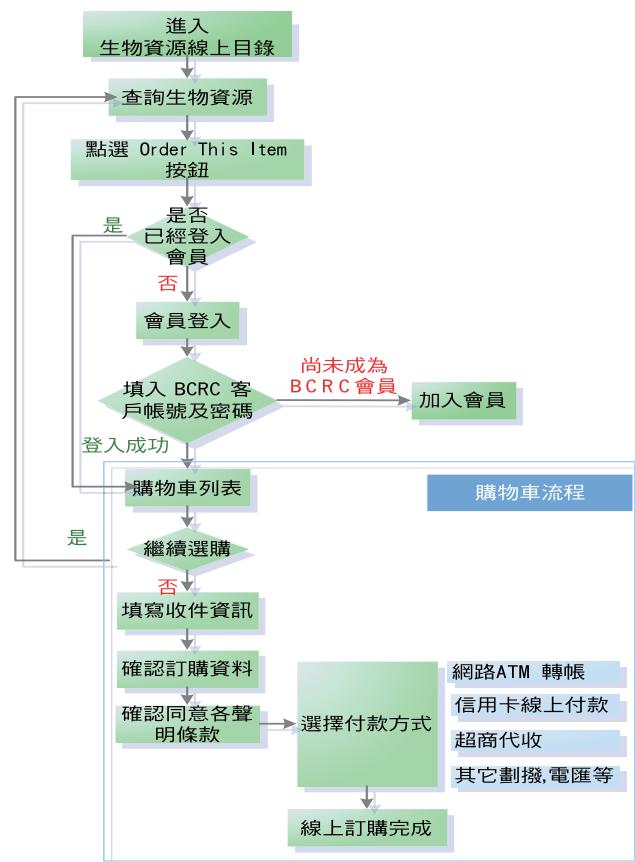
## 新服務

# 生物資源網路購物車與線上交易服務

生資中心／研究員  
陳倩琪

本所生資中心BCRC於99年3月1日正式提供生物資源網路購物車與線上交易的服務，即日起顧客在網路上選購生物資源後，可直接在網路進行交易付款，包括信用卡付款及網路ATM轉帳。另外亦提供超商代收的服務，只要在網路下載列印超商的電子繳費單，即可至四大超商(7-11、全家、萊爾富及OK便利商店)進行付款。為使客戶在安全的網路交易環境

下，進行便利的購菌服務，本交易系統採用SSL資料加密技術(避免私密資料於網路傳輸被盜用)，並取得網站認證憑證(透過台灣網路認證以確認為合法網站)。並在訂購資訊透明的機制下，提供顧客以會員登入的方式查閱各訂單的執行狀態，日後將陸續上線出貨通知與出貨查詢，便利顧客能掌握所訂購之生物資源出貨狀況，以利各項研究的規劃與進行。



生資中心BCRC線上購物車流程，詳細資料請參考網址：  
[http://www.bcrc.firdi.org.tw/wwwbcrc/c01\\_profile.do](http://www.bcrc.firdi.org.tw/wwwbcrc/c01_profile.do)

## 新資源

生資中心／研究員  
劉桂郁、陳倩琪

生物資源保存及研究中心近期公開菌種包括細菌、放線菌、酵母菌、絲狀真菌、以及菇類等，共計145屬262種329株，分離自土壤、海水、污泥、食品、植物及特殊環境(如曬鹽池、冰川、沙漠、太空船表面)等基質，其中，包含標準菌種132株，本土菌種134株，各類新資源菌株列表，請參見網址[http://www.bcrc.firdi.org.tw/wwwbcrc/g01\\_profile.do](http://www.bcrc.firdi.org.tw/wwwbcrc/g01_profile.do)，點選各類菌株編號可得詳細的菌株資訊，同時可直接線上購買。

同時生資中心亦從即日起，增加一類生物資源--微生物染色體DNA的提供。此類產品目前是以乳酸菌菌種中常見屬種的標準菌株為標的，抽取其染色體DNA，並確認其在保存狀態良好，足以提供作為PCR反應及一般分子生物技術實驗，材料的使用說明請參見網頁中該產品內容，由生物資源線上目錄，網址為<https://www.bcrc.firdi.org.tw/BSAS>，選取genomic DNA按下查詢，可見此類產品的列表。此類產品同樣可經由購物車及線上付款系統進行分讓(購菌)。

## 新技術

# 利用 $dnaK$ 基因序列分析鑑別產業用植物乳酸桿菌群之學名

生資中心／副研究員、資深研究員  
黃建勳、李福臨

*Lactobacillus plantarum*為食品工業上重要的益生菌，可以廣泛應用於食品、飼料及臨床醫學上。因為*Planta*在拉丁文中的意思為植物的芽，故其中文被翻譯成植物乳酸桿菌。於2003年，*L. plantarum* WCFS1全基因體完成解碼，其基因體大小約為3.3 MB而遠大於一般乳酸菌，如*Lactobacillus acidophilus*約2 MB，是值得更加深入探討的，例如其功能性基因體(functional genomics)之研究。與植物乳酸桿菌類似的菌種大都屬於*L. plantarum* group(嚴格意義之植物乳酸桿菌群)。植物乳酸桿菌群目前是由五個類緣關係非常密切的乳酸菌種組成，包括*L. plantarum*兩個亞種，亦即*L. plantarum* subsp. *plantarum*和*L. plantarum* subsp. *argentoratensis*、*Lactobacillus paraplantarum*、*Lactobacillus pentosus*及*Lactobacillus fabifementans*。其中，*L. paraplantarum*與*L. pentosus*亦為產業用之益生菌。

傳統的乳酸菌學名之鑑定方法上，主要是以表現型特徵(phenotype)作為依據，包括形態學特徵，如革蘭氏染色性、細胞之形狀與大小、運動性與鞭毛、孢子、菌落之形狀與顏色等，與生理及生化學特徵，如

碳源利用、硝酸塩還原、脫氮反應、色素形成、氧化酵素(oxidase)試驗、觸酶(過氧化氫酵素，catalase)試驗、生長的pH、生長的溫度、O/F test(Oxidation-Fermentation test)、酸之形成、氧氣之需求性等。然而，表現型特徵只能反映出有限的遺傳信息，有些乳酸菌之細胞形態及生理生化特性會隨著不同環境產生變異。因此，若只是依據表現型特徵之差異作為乳酸菌之鑑別，恐怕是極有可能誤判的。近年來分子生物學及基因體學蓬勃發展，利用DNA層次輔助傳統分類學方法，已成為細菌鑑定上值得信任之新興作法，目前的分子生物學技術中，唯有利用DNA雜交方式是最後、最正確決定菌株學名方法，但該技術耗時、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中使用。而專一性聚合酶鏈鎖反應(species-specific PCR, SS-PCR)是利用具有種別特異性的核苷酸作為引子，透過PCR的增殖反應，即可直接鑑定菌株之學名。與其他分生技術相比，SS-PCR最能符合簡單、快速、準確及低成本之需求，目前已有許多文獻針對產業用乳酸菌種開發種別鑑定之特異性引子<sup>(1)</sup>，但由於有些乳酸菌種基因型非常接近，導

致引子不易設計，故SS-PCR技術無法一次同時鑑定所有類緣相近之乳酸菌種。

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16S rRNA基因當作標的，分析不同菌種間差異是細菌分類學上最常採用的方法。然而，有些類緣關係密切的菌種，除了在表現型特徵類似外，甚至連一些基因型(16S rRNA基因序列)也很相近。以植物乳酸桿菌群為例，其16S rRNA基因序列相似度高達98.9-99.9%，但DNA雜交試驗卻可以清楚證實為不同乳酸菌種。因此，選擇具有高度保守性和足夠變異性的蛋白質編碼基因(protein-encoding gene)作為標的，始得解決近緣物種(closely related species)不易區分之困擾。*dnaK*基因能編碼HSP70蛋白，廣泛存在於各種生物，如細菌、真菌或哺乳動物等。HSP70屬於輔助蛋白(molecular chaperone)，主要功能是將細胞中未摺疊的蛋白質重新進行摺疊，以維持蛋白質結構的穩定和正常功能執行。*dnaK*屬於蛋白質編碼基因，不易受到特殊生長環境而發生突變，不易產生基因水平轉移作用(horizontal gene transfer, HGT)，且*dnaK*序列具有部分高相似度區域(hightly conserved)及部分變異性(variable)區域，其提供之演化訊息遠大於16S rRNA。目前已有許多文獻證實*dnaK*基因序列能將類緣關係相近之菌種進行有效的區分。因此，*dnaK*可作為細菌分類、鑑定上理想的演化標記(phylogenetic marker)之選擇。

本所生物資源保存及研究中心接受的細菌委託鑑定業務中，屬於植物乳酸桿菌群相關菌種的鑑定案件為數不少，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，而造成應用上之困擾，唯有開發快速又準確之菌種鑑定技術，方能解決「學名被鑑定錯誤之菌株」的問題。本中心以 *dnaK* 基因序列分析及 DNA 指紋法開發出植物乳酸桿菌群之菌種鑑定技術，研究結果顯示 *dnaK* 基因平均序列相似 (89.2%) 顯著低於 16S rRNA (99.4%)，經由相鄰連接法 (neighbor-joining) 所重建之類緣關係樹明顯呈現出五個種別群集 (圖 1)，此表示 *dnaK* 基因在該菌群具有良好的區分性。除此之外，DNA 指紋技術 PCR-RFLP 或 RAPD-PCR 亦可發揮有效的區分能力，每個菌種皆能產生其獨特之種別專一性圖譜 (圖 2)。綜合以上結果，應用 *dnaK* 基因序列或 DNA 指紋技術能夠同時正確的迅速鑑別植物乳酸桿菌<sup>(2)</sup>。

## 參考文獻

1. C. H. Huang, F. L. Lee, *J. Sci. Food. Agric.* 89, 1831 (2009).
2. C. H. Huang, F. L. Lee, J. S. Liou, *Antonie Van Leeuwenhoek*. 97, 289 (2010).

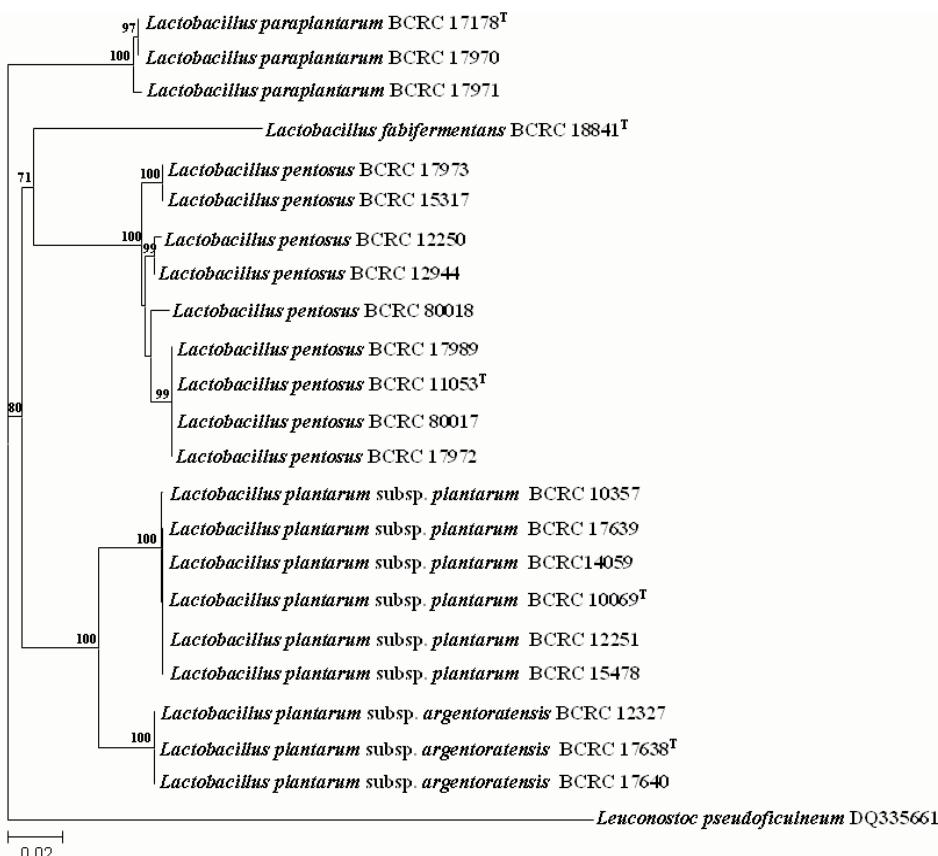


圖 1、以 *dnaK* 基因序列建構植物乳酸桿菌群之親緣關係樹 (neighbor-joining tree)。枝幹上的數字代表 bootstrapping 1000 次所得之統計值。

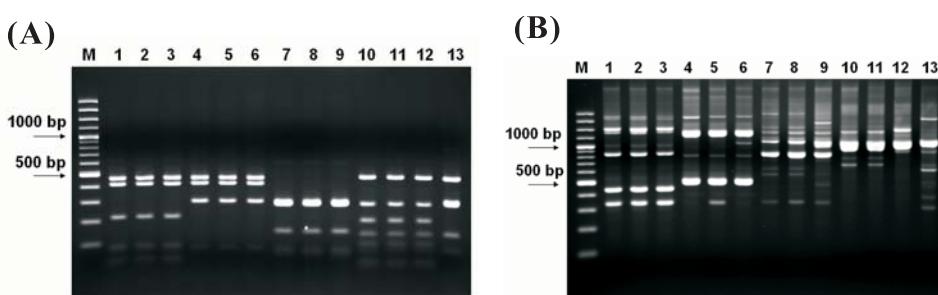


圖 2、利用 DNA 指紋技術鑑別植物乳酸桿菌群。

- (A) : 以限制酶 *Tsp509I* 進行植物乳酸桿菌群 *dnaK* 之 RFLP 分析。
- (B) : 以逢機引子 *OPT-1* 進行植物乳酸桿菌群之 RAPD 指紋分析。
- (1) *L. plantarum* subsp. *plantarum* BCRC 10069<sup>T</sup>;
  - (2) *L. plantarum* subsp. *plantarum* BCRC 12251;
  - (3) *L. plantarum* subsp. *plantarum* BCRC 14059;
  - (4) *L. plantarum* subsp. *argentoratensis* BCRC 17638<sup>T</sup>;
  - (5) *L. plantarum* subsp. *argentoratensis* BCRC 17640;
  - (6) *L. plantarum* subsp. *argentoratensis* BCRC 12327;
  - (7) *L. paraplatnarum* BCRC 17178<sup>T</sup>;
  - (8) *L. paraplatnarum* BCRC 17970;
  - (9) *L. paraplatnarum* BCRC 17971;
  - (10) *L. pentosus* BCRC 11053<sup>T</sup>;
  - (11) *L. pentosus* BCRC 17972;
  - (12) *L. pentosus* BCRC 17973;
  - (13) *L. fabifermentans* BCRC 18841<sup>T</sup>.

# 真菌命名之有效發表、正當發表及命名模式

生資中心／研究員  
劉桂郁

真菌之命名由國際植物命名規約 (International Code of Botanical Nomenclature, ICBN) 規範，目前最新版為2006年之維也納法規 (Vienna Code)，為依據此規約執行真菌之命名，國際植物分類學會 (International Association for Plant Taxonomy) 所屬之國際植物學大會(International Botanical Congress) 設置真菌命名委員會 (Nomenclature Committee for Fungi)，其任務為討論表決真菌學名保留或廢棄，以及考慮真菌命名相關規約修改之提案等<sup>(1)</sup>；國際植物命名規約共有六大原則：原則一為植物命名與動物及細菌之命名規約各自獨立，且平等適用於所有視為植物之分類群，不論此分類群原本是否歸屬於植物界；原則二為分類群名稱之使用須以命名模式 (nomenclatural types) 為依據；原則三為分類群的命名依據發表的優先權 (priority of publication)；原則四為除非特定事例，具有特定範圍、位置及位階的各分類群只能有一個正名(correct name)；原則五為分類群之學名無論其來源，均須拉丁化；原則六為除非有特殊限制，命名法的規則可溯及既往<sup>(2)</sup>；合乎所有命名規則之名稱，為合法名(legitimate name)。

真菌之命名需透過有效發表 (effective publication) 及正當發表 (valid publication)，依據規約，新名稱必須公開發表於可經由交換、贈與或販賣等方式提供給公眾或植物學家之學術性期刊，方為有效發表；而手稿、打字稿、

標示於公開植物園或標本上的名稱，以及在公開會議、其他未發表資料製成之縮微膠片或經由電子或電子媒體發表的名稱，均為無效<sup>(2)</sup>。

正當發表則需符合：(a)有效發表、(b)分類群名稱由拉丁文字體組成且格式遵守條文規定、(c)具有拉丁文的描述或識別特徵，或引用之前有效發表之描述或識別特徵、(d)指定命名模式 (nomenclatural type, *typus*)、(e)明確指出分類群之分類位階等必要條件<sup>(2)</sup>，若其中有任一要件未能符合，則該名稱視為未經正當發表。

指定命名模式為正當發表之必備要件，科或科以下分類群名稱之使用取決於命名模式，無論此名稱為正名 (correct name) 或異名 (synonym)<sup>(2)</sup>，命名模式為永久伴隨分類群名稱的元素，比對命名模式可確認是否為同一分類群，在識別未鑑定的分類群時，命名模式為釐清問題的依據，同時也是修訂分類的重要材料，因此可說是穩定命名的基礎。

對於命名模式的指定，對應不同的狀況，有不同的法條。模式 (type) 有下列幾種：主模式 (holotype)、補選模式 (lectotype)、等模式 (isotype)、合模式 (syntype)、新模式 (neotype) 以及等合模式 (isosyntype) 等，於命名規約之價值與功能有所差異，自1990年1月1日或以後，發表屬或屬以下新的分類群名稱，指定模式時需包含拉丁字 “*typus*”、“*holotypus*”

或其縮寫或其現代語言之同義字；此外保存模式的標本館或機構需明確說明。

種或種以下分類位階之模式為單一標本或圖示 (illustration)，2007年1月1日或以後，模式必須為標本，但微小藻類或微小真菌隻新種或種以下分類群名稱的模式，如果保存有技術上的困難或無法保有屬於該分類群之特徵，此分類群名稱的模式可以是有效發表的圖示；模式標本必須永久保存，不可為活的植物或培養物 (culture)，但真菌或藻類之培養物，於代謝無活性的狀態 (metabolically inactive state，例如冷凍乾燥或冷凍) 下保存，可被接受其模式 (type) 之地位，在這種狀況下，規約中建議由模式所獲得之活的分離株，應指出為 “*ex-type (ex typo)*”、“*ex-holotype (ex holotypo)*” 等，以示係來自模式，而非命名模式本身；此外建議在新近描述的真菌及藻類新種，如可培養，應自主模式製備培養物並寄存於兩個以上的菌種中心或遺傳資源中心<sup>(2)</sup>。

真菌的學名為研究交流與產品開發不可或缺的關鍵，「國際植物命名規約」提供世界各國分類學家穩定的命名方法，由六大原則所引申制定的法條，涵蓋分類群及其位階、名稱之狀態和模式化及優先權、各位階分類群之命名法、有效出版及正當出版、名稱之廢棄、具多型性生活史真菌之命名法、名稱之拼綴與性別等範疇，其內容相當詳細且精密<sup>(2)</sup>，因此無論是命名或是學名之變更，皆應透過適當的分類學研究取得充足的證據後進行，並遵守「國際植物命名規約」所有相關的規則，以避免學名錯誤、混淆或紊亂之使用。

## 參考文獻

1. Nomenclature Committee for Fungi. <http://www.ima-mycology.org/CFF/>.
2. J. McNeill et al., International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code), (2006). <http://www.ibot.sav.sk/icbn/main.htm>.

# 海洋微生物天然產物之研究

生資中心／研究員  
廖麗玲

## I. 前言

海洋微生物是一個天然活性物質的大寶庫，其特殊的環境與生態系使其代謝產物具有多樣新穎的結構與特殊的生物活性。因此，海洋微生物的代謝產物對新藥開發、環境保護、生物材料與水產養殖等領域有很重大的影響。已知海洋的藍綠藻是生物活性物質的一個重要來源<sup>(16)</sup>。由藍綠藻所分離具有 antimicrotubule 活性的 dolastatin A 與 curacin A，這兩種化合物已經進入先期臨床試驗及臨床試驗，也被當作先導結構，用來合成具有抗腫瘤活性的衍生物庫<sup>(9)</sup>。此外，海洋放線菌也是一群生產生物活性物質的重要菌種，如 *Salinisporea* 屬的放線菌，在近年也很受矚目<sup>(2,6,12)</sup>。最明顯的例子是由海洋棲息微生物所衍生的代謝物 salinosporamide A，它是 20S proteasome 的強效抑制劑，從 salinosporamide A 被發現到進入臨床評估只有短短三年的時間<sup>(7)</sup>。

近年來先進的分析儀器及製備方法的開發，幫助擴展海洋微生物的價值，包括海洋微生物合成的產物與其所攜帶的基因。然而，藉由分析工具的改進，加速對天然來源的化合物之鑑定，甚至對由複雜的微生物團產生的化合物也可以鑑定。此外，應用現代微生物遺傳學可以循理化設計重組生物

體，經由組合生物合成與體外合成，來產生新穎的「非天然的」天然產物<sup>(8,14,15)</sup>。本文主要是介紹近年來海洋微生物在其二次代謝產物的領域之最新發現與最新進展。

## II. 由海洋微生物發現新穎性生物活性化合物

海洋細菌是新穎性天然產物的新興來源。大部份的化合物由絲狀念珠藻目的藍綠藻所分離出來的，特別是由 *Lyngbya*、*Oscillatoria* 與 *Syloca* 等屬的菌種所分離到的。其中許多具有抗腫瘤活性的代謝產物是修飾勝肽或勝肽-聚酮混合物 (peptide-polyketide hybrids)<sup>(16)</sup>。最近由藍綠藻及放線菌分離出具有高生物活性的天然物有以下幾種：(1) largazole：由 *Syloca* sp. 菌株分離得到的具有抗增殖活性的 largazole，對轉形的人類乳腺上皮細胞與纖維組織母細胞性骨肉瘤，具有很強的抑制作用<sup>(17)</sup>。(2) coibamide A：是一個新型勝肽類的細胞毒素<sup>(13)</sup>，由 *Leptolyngbya* sp. 菌株分離到。這個化合物具有高度的 N-甲基化的環狀 depsipeptide，它抑制癌細胞的增殖可能是經由新的機制，因此，coibamide A 可能是一個有價值的前導藥物。(3) somocystinamide A：由 *Lyngbya majuscule*/ *Schizothrix* 的混合組合分離到的。somocystinamide A 在多個人類種瘤細胞株中可以

引發 caspase-8-dependent 細胞凋亡 (apoptosis)<sup>(19)</sup>。此外，marinopyrroles A、marinopyrroles B、marineosins A、marineosins B、ammonsamides A 及 ammonsamides B 等化合物皆由放線菌 *Streptomyces* spp. 所分離得到。marinopyrroles A 及 B 是由美國加州 La Jolla 的海洋底泥所分離到的 *Streptomyces* sp. 菌株所產生。這兩種化合物對甲氧苯青黴素有抗藥性的金黃色葡萄球菌 (MRSA)，具有很強的抑制性，未來可能作為抗生素的先導結構<sup>(10)</sup>。marineosins A 比 B 的活性高 100 倍，marineosins A 對 NCI 60 細胞株具有廣效的細胞毒性，此外對白血病和惡性黑色素瘤細胞株則有相當的選擇性<sup>(1)</sup>。ammonsamides A 及 B 由巴哈馬的深海底泥所分離的放線菌菌株所產生的，這兩種化合物對 HCT-116 結腸癌細胞具有很強的細胞毒性，也對其他一些癌細胞株有選擇的細胞毒性<sup>(11)</sup>。

## III. 海洋天然物來源之調查

一些由大生物如海綿分離得到的天然物，從海洋微生物也可以分離得到類似構造的天然物。這引發了這些天然物的真正生產者的疑慮。早期的研究方法是將無脊椎動物和微生物細胞分離，再分別純化其產生的代謝物，以釐清天然物的真正來源。最近應用 MALDI-TOF-MS 質譜儀來分析微生物混合菌群，甚至可以藉由個別微生物的質量指紋圖譜 (phyloproteomics) 做個別微生物的鑑定，這個技術先前被應用探討海綿體內細菌群之類緣關係與化學多樣性<sup>(4)</sup>。此外，利用 natural product MALDI-TOF-imaging (npMALDI-I) 技術可對海洋藍綠藻和海綿的二次代謝

產物進行鑑定<sup>(5)</sup>。不過，npMALDI和其他上述所有方法只能確認一個二次代謝物存在特定的細胞萃取物中。僅僅是在生物群落中的某一生物體存在的一種化合物，可以是主動或被動積累的結果，並不一定與此化合物之生合成的起源有相關。由複雜的海洋生物群得到的天然物，將來可能需要依賴基因體研究來探討其生合成的真正起源。

## IV. 利用基因體解碼發現新化合物

第一個完成全基因體定序的海洋放線菌是 *Salinispora tropica*<sup>(18)</sup>，經由生物資訊分析基因序列，在5,183,331bp的染色體中約有10%的序列被註解為與二次代謝有關的基因，這些基因的比率比 *Streptomyces coelicolor* 多2倍。*S. tropica*菌株包含至少19個二次代謝產物生合成基因群，可以表現各式各樣的天然物，包括鐵載體(siderophores)、聚酮化合物、黑色素，非核糖體和核糖體勝肽、萜類化合物與aminocyclitols等。在*S. tropica*基因體序列被解碼出來前，只有salinosporamides、sporolides與lymphostatin等三個不同類型的二次代謝產物被鑑定出來。結合*S. tropica*基因體資訊、傳統的化合物分離與結構鑑定技術，鑑定出*S. tropica*的第四個二次代謝產物 polyene macrolactam salinilactam A<sup>(18)</sup>。對越來越多的海洋微生物基因體資料進行分析與比較，將對新藥的開發提供一個新的方向。

## V. 利用放線菌的酵素合成化合物

Cheng等人<sup>(3)</sup>首先證明enterocin的生合成途徑，並研究出 *Streptomyces maritimus* 與

enterocin的生合成有關的基因組，包括20個基因。Cheng等人利用9個重組酵素與3個商業酵素，加入合成enterocin途徑的起始物質苯甲酸、malonyl-CoA以及ATP與SAM，在一個試管中成功合成enterocin，產率為25% (圖1)<sup>(9)</sup>。結合現代的合成方法與酵素反應，在未來可能是最有效的天然產物合成的方法。

## VI. 結論

海洋微生物可以產生獨特的生物活性分子，利用傳統的篩選和分離技術，可以獲得豐富的新結構。此外，越來越多的二次代謝產物，原本認為是源自海洋無脊椎動物，後來卻被證明是由海洋細菌所生合成的。這些微生物的二次代謝物生合成基因一般都在密集的基因群中，使得這些基因群可以被選殖，也可以建立有效的異源表現系統。二次代謝產物生合成基因群的邏輯排列，便於基因操作，而產生了更多樣性的代謝產物，利用這種代謝工法，將可對醫學用途的新型衍生物做循理性設計。其次，海洋微生物的基因體定序，對二次代謝產物的生合成基因群提供了重要的資訊，也可由基因序列的註解中，發現生合成新型二次代謝物的基因群。結合古典天然物化學、現代微生物遺傳學和生物資訊學，可克服先前海洋微生物研究所遇到的問題，提供海洋微生物二次代

謝產物往新藥開發拓展的一個新途徑。

### 參考文獻

- C. Boonlarppradab, C. A. Kauffman, P. R. Jensen, W. Fenical, Org. Lett. 10, 5505 (2008).
- A. T. Bull, J. E. M. Stach, Trends Microbiol. 15, 491 (2007).
- Q. Cheng, L. Xiang, M. Izumikawa, D. Meluzzi, B. S. Moore, Nat. Chem. Biol. 3, 557 (2007).
- R. Dieckmann, I. Graeber, I. Kaesler, U. Szewzyk, H. von Döhren, Appl. Microbiol. Biotechnol. 67, 539 (2005).
- E. Esquenazi et al., Mol. BioSyst. 4, 562 (2008).
- W. Fenical, P. R. Jensen, Nat. Chem. Biol. 2, 666 (2006).
- W. Fenical et al., Bioorg. Med. Chem. 17, 2175 (2009).
- J. L. Fortman, D. H. Sherman, Chem. Bio. Chem. 6, 960 (2005).
- T. A. Gulder, B. S. Moor, Curr. Opin. Microbiol. 12, 252 (2009).
- C. C. Hughes, J. B. MacMillan, S. P. Gaudêncio, P. R. Jensen, W. Fenical, Angew. Chem. Int. Ed. 48, 725 (2009).
- C. C. Hughes, J. B. MacMillan, S. P. Gaudêncio, W. Fenical, J. J. La Clair, Chem. Int. Ed. 48, 728 (2009).
- P. R. Jensen, P. G. Williams, D.C. Oh, L. Zeigler, W. Fenical, Appl. Environ. Microbiol. 73, 1146 (2007).
- R. A. Medina et al., J. Am. Chem. Soc. 130, 6324 (2008).
- H. G. Menzella, C. D. Reeves, Curr. Opin. Microbiol. 10, 238 (2007).
- E. S. Sattely, M. A. Fischbach, C. T. Walsh, Nat. Prod. Rep. 25, 757 (2008).
- L. T. Tan, Phytochemistry 68, 954 (2007).
- K. Taori, V. J. Paul, H. Luesch, J. Am. Chem. Soc. 130, 1806 (2008).
- D. W. Udwary et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104, 10376 (2007).
- W. Wräsiglo et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105, 2313 (2008).

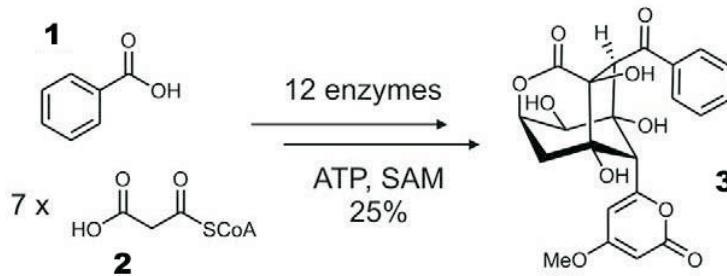


圖1、試管中合成 enterocin，  
1: benzoic acid ; 2: malonyl-CoA ; 3: enterocin<sup>(9)</sup>。

# 酵母菌分生鑑定之最新發展趨勢

生資中心／資深研究員  
李福臨

## I. 前言

酵母菌是真菌(Fungi)之一部分，但與一般的絲狀真菌(filamentous fungi)不同，在大部分之條件下，以單細胞增殖，形成細菌一般的菌落，與絲狀真菌佈滿氣生菌絲(aerial hyphae)之菌落形態不同。大致上可說「酵母菌大部分呈單細胞，可行有性生殖(sexual reproduction)，形成子囊孢子(ascospores)或擔孢子(basidiospores)；或行無性的出芽生殖」。全球目前發現酵母菌約有800餘種之多樣性，能應用於污染消除與多醣膠體生產等用途。針對酵母菌資源，收集分離並篩選在特殊環境下的酵母菌，包括高多樣性環境(如海洋)、極端環境(如高山)或專有環境(如特有種動植物、共生、地區性發酵食品等)，可做為國家生物資源保護與高價值應用的基礎。除了可以釀酒(含酒精飲料)與製作麵包外，在工業上也廣泛應用於生產酵素、製藥、疫苗等。由中國食品產業網(<http://www.foodqs.cn/news/gjspzs01/200531102154.htm>)2005年發佈之世界各國新型“酵母菌”產品開發現狀一瞥得知，還有許多新興用途之酵母菌，如新型麵包酵母菌、生

產甘油、明膠、木糖醇或海藻糖的酵母菌和抑制蘋果腐爛的酵母菌。然而在正確的鑑別、鑑定酵母菌方面，一直有持續性、進步性之發展，尤其是分子層次的鑑定方法更是大家所注目、追求的。

## II. 酵母菌鑑定之進展

酵母菌學家主要以形態學特徵與生理生化特徵等來鑑別菌種。基本上以「The Yeasts, a taxonomic study」為藍本。Barnett等人也連續發表酵母菌鑑定書(Yeasts: Characteristics and identification)，以及PC鑑定程式<sup>(1,2)</sup>。包括a.形態觀察：1.液體培養特徵、2.固態培養特徵、3.菌絲觀察、4.孢子觀察。b.生理生化特徵：1.發酵試驗、2.碳源同化、3.氮源同化、4.溫度試驗、5.其他試驗：在不含維他命(Vitamine-free)之培養基上生長及其他項目依標準法行之<sup>(8,9)</sup>。同時可利用已累積之菌株形態、生理及遺傳等龐大數據，配合電腦之資料處理及分析。數種常用的電腦數值鑑定方法如：Yeast Identification Program、Biolog鑑定系統、API鑑定套組以及Vitek鑑定系統。最近化學分類學及分子分類學的實驗法在細菌分類學上大量被使用，酵母菌之分類學者也跟著

採用了，包括quinone系統、脂肪酸組成、酵素電泳圖譜、DNA鹼基組成、染色體電泳圖譜、DNA相同性等。化學方法方面常用的鑑定技術包括：脂肪酸自動鑑定系統、Quinone系統、同功酵素電泳圖譜、染色體脈動電場膠體電泳以及DNA鹼基組成(G+C含量)。

傳統的分類法仍用於酵母菌之鑑定，但缺點包括由於基因突變引起的形態和生理特性之不穩定。因此，新的酵母菌分類趨勢是基因序列分析<sup>(15,28,29)</sup>。

## III. 分子層次的鑑定方法之進展

利用PCR擴增rDNA(rRNA gene)技術做DNA片段的分析<sup>(4,5)</sup>，例如RFLP、RAPD、AFLP等。食品工業發展研究所以RAPD指紋進行*Saccharomyces sensu stricto complex*的物種識別。40個隨機引子被用於RAPD分析。結果表明，其中一個引子，OPT-18，形成974bp的種特異性帶狀，僅發現於測試之*Saccharomyces bayanus*。之後這個特定片段從瓊脂糖凝膠中分離，並連結至DNA定序之載體。根據選植物之種特異性序列，設計了一對引子SpeOPT18Sbay-F2和SpeOPT18Sbay-R2，這個用於*Saccharomyces sensu stricto*菌株模板DNA之PCR反應，結果單一779bp的種特異性帶狀只發現於*Saccharomyces bayanus*。因此，認為這個新的物種DNA標記可用於直接PCR反應，從*Saccharomyces sensu stricto complex*中，來快速、準確地鑑別物種*Saccharomyces bayanus*<sup>(5)</sup>。

為了發展以核糖體DNA的內部轉錄間隔區(ITS)為準的，鑑定經常被發現之酸麵糰酵母菌種(sourdough yeast species)的種特異性「引子對」。比對酸麵糰酵母菌ITS序列，以設計物種特異性引子，然後將其用於酸麵糰酵母菌株的模板DNA，進行聚合酶鏈反應。PCR引子顯示對於下列菌種具有特異性：*Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*)、*Candida humilis*、*Kazachstania exigua* (*Candida holmii*)、*Pichia anomala*和*Pichia subpelliculosa*。因此，作者認為其新的物種特異性引子，利用PCR技術為準的檢測，可用於快速、準確地鑑定最頻繁出現的酸麵糰酵母菌種<sup>(6)</sup>。

至於rDNA序列研究方面，因為生物幾乎都有rRNA，它在演化上非常穩定，rDNA被認為來自相同之祖先，是微生物系統進化研究之有用因子。一般微生物都有保守性較高之small subunit rDNA(SSU rDNA，細菌為16S而真菌為18S)與large subunit rDNA(LSU rDNA，細菌為23S而真菌為25-28S)為其結構基因；而基因間之轉錄區域(Internal transcribed spacer, ITS region)變異較大，重複單位之間的Intergenic spacer (IGS)區域包括External transcribed spacer (ETS)區域與Non-transcribed spacer(NTS)區域，在物種間差異較大。近年來PCR技術，DNA定序與自動化序列解讀設備等之發展，使分生方法加速了菌種之分類與鑑定的發展。根據rDNA的特性比較其序列，可得到廣大範圍的物種關係，是近代系統發生學之重要資訊來源。一般而言，SSUrDNA最

適用於關係較遠之物種比對，而ITS或間隔DNA區域因演化速度較快，可用於關係較近之物種，甚至種內不同菌株之研究。

*Saccharomyces sensu stricto complex*包括7種關係很密切的酵母菌。Huang等人比較兩種不同的系統發育標記，26S rDNA和 $\beta$ -微管蛋白( $\beta$ -tubulin)基因，利用定序以及限制性片段長度多態性(RFLP)的方法，以鑑別*Saccharomyces sensu stricto*菌株中的親緣關係。以btub-400r與btub-600f兩個引子，得到7個種的 $\beta$ -微管蛋白基因(約900bp)，其序列相似度為86.4%-98.7%，平均為90.0%，明顯低於26SrDNA的(98.6%)。

這一結果表示， $\beta$ -微管蛋白基因序列比26SrDNA的序列，提供了更高的分辨率。測試HaeIII、AluI、MspI、Tsp509I酶剪切之結果，以Tsp509I酶剪切，可得*Saccharomyces sensu stricto*菌株之種特定的限制圖譜。這些數據表示，這些菌株間的親緣關係之最佳解決，是使用定序或限制性片段長度多態性分析 $\beta$ -微管蛋白基因<sup>(7)</sup>。重要的釀酒、烘焙工業用酵母菌*Saccharomyces cerevisiae*等，也是近年來熱門的保健食品產業用菌株，生理功能廣受重視和產業應用。與其類似菌種大都屬於*Saccharomyces sensu stricto complex* (嚴格意義之*Saccharomyces*菌群)。而該群目前有*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces paradoxus*, *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces pastorianus*, *Saccharomyces cariocanus*, *Saccharomyces mikatae*,

*Saccharomyces kudriavzevii*，但是因為其微生物表徵很類似，菌種之間難以傳統方法鑑別。唯有利用複雜昂貴的核酸雜交試驗逐一鑑定方可決定菌株的正確學名。食品所生資中心利用新鑑別方法，分析菌體中參與編碼微管蛋白的 $\beta$ -微管蛋白( $\beta$ -tubulin)基因序列[微管蛋白是真核細胞中蛋白纖維網路結構--細胞骨架(cytoskeleton)的基礎成分]可快速且正確判斷*Saccharomyces sensu stricto complex*菌種之學名，相關技術成果已發表於知名文獻。即日起生資中心提供 $\beta$ -tubulin基因序列分析服務，為產業界提供明確、迅速且最具公信力之鑑定服務。

Kurtzman認為核DNA雜交是在分子層次上首次採用定量的方法識別酵母菌種，多重基因分析包括蛋白質編碼基因(protein-encoding genes)序列正在日益發展，多重基因座序列分型法(multilocus sequence typing, MLST)將族群遺傳學及類緣分析之概念導入分類學，提供了物種鑑定更明確的徹底解決方法<sup>(15)</sup>。Maiden等人分析abcZ、adk、aroE、gdh、pdhc及pgm六個基因序列，發現與MLEE之歸群結果有高度的一致性<sup>(26)</sup>。Zeigler使用一組普遍性的protein-coding genes，可進行迅速、確定之鑑定。學者提出具有適當的序列變異供親緣分析，可以genome comparison的方法來尋找值得分析的持家基因(housekeeping genes)。在細菌的分類學中，使用一些持家基因，最適合分析種和屬位階<sup>(17,30,32,33)</sup>。

Kurtzman及Robnett利用

SSU rRNA (18S)、LSU rRNA (26S)、ITS、translation elongation factor 1-alpha (EF-1 $\alpha$ )、actin (act1)、DNA-dependent RNA polymerase II RPB140、mitochondrial small subunit rRNA (Mt Sm rRNA)、cytochrome oxidase subunit 2 (Cox II) 等基因，進行多基因序列分析，交叉分析‘*Saccharomyces complex*’以及其類緣關係接近之菌種，包括*Arxiozyma*、*Eremothecium*、*Hanseniaspora* (無性世代 *Kloeckera*)、*Kazachstania*、*Kluyveromyces*、*Pachytichospora*、*Sacccharomyces*、*Tetrasisporula*、*Torulaspora*、*Zygosaccharomyces* 及相關無性世代之 *Candida castellii*、*Candida glabrata*、*Candida humilis*，鑑定出不同於現存屬名之分類群，預計會訂出新的屬名來解決這個問題<sup>(14)</sup>。Kurtzman等人利用LSU rRNA (26S)、DNA-dependent RNA polymerase II、Mt Sm rRNA等基因，進行多基因序列分析，這項分析把受測試之48株歸為5個近緣種：*Kazachstania telluris*、*Candida bovina*、*C. pintolopesii*、*Candida slooffiae*與1個未知的物種，建議將他們全部鑑定到*Kazachstania*屬：*K. bovina*、*K. heterogenica*、*K. pintolopesii*、*K. slooffiae*。並確定物種的系統發育上表現出適度的寄主專一性<sup>(10)</sup>。Kurtzman等人利用Mt Sm rRNA、CoxII、LSUrRNA、SSU rRNA等基因，進行多基因序列分析，分析Lipomycetaceae後提出轉移 *Zygozyma* 屬之菌種到 *Lipomyces* 屬，以及轉移

*Babjienvia anomala* 到 *Dipodascopsis* 屬<sup>(12)</sup>。Kurtzman及Robnett利用MtSmrRNA、LSU rRNA、cytochrome oxidase II 等基因，進行多基因序列分析，分析 *Trichomonascus*、*Wickerhamiella*、*Zygoascus* 家族，鑑定了 *Sugiyamaella* gen. nov. 和 14 個新組合種<sup>(11)</sup>。Kurtzman也利用LSU rRNA、ITS1/ITS2 rRNA、MtSm rRNA、CoxII等基因，進行多基因序列分析，鑑定了 4 個新種，*Candida infanticola* sp. nov.、*Candidapolyorbophila* sp. nov.、*Candida transvaalensis* sp. nov.、*Trigonopsis californica* sp. nov.<sup>(13)</sup>。Kurtzman等人利用EF-1 $\alpha$ 、Mt Sm rRNA、LSU rRNA、SSU rRNA、ITS等基因，進行多基因序列分析，探討 *Pichia*、*Issatchenkia*、*Williopsis* 之親緣關係，可鑑別出不同物種，而命名為 *Barnettozyma* gen. nov.、*Lindnera* gen. nov.、*Wickerhamomyces* gen. nov.，同時研究結果顯示 *Issatchenkia hanoiensis* 是 *Pichia sporocuriosa* 的一個同種異名。因為作者發現兩個物種之標準菌株的D1/D2區域、ITS和線粒體SSU rRNA基因序列是相同的<sup>(13,27,31)</sup>，當 *I. hanoiensis* 被發表時，*P. sporocuriosa* 之D1/D2診斷序列無資料可供查詢比對，因此無從判別二者為同種。

至於DNA相似性是目前最有公信力及說服力的鑑定方法。比照細菌，當與任一標準菌株有 70% 以上之DNA相似者，可認為是與之同種。目前之測定法改為非放射性物質光

生物素(photobiotin)標識法，使得DNA相似性的方法，更容易操作且更易普及化，不過還蠻花時間的、需要熟練之技術。

部份生物的全基因組序列已經被微陣列技術採用，相似的技術已經用來揭露在典型的酵母種 *Saccharomyces cerevisiae* 的不同菌株間的關係。以 *Saccharomyces cerevisiae* 全基因組序列顯示的所有 protein-encoding genes 為基礎，開發微陣列技術為 *Saccharomyces cerevisiae* sensu stricto 構築一個分子系統發生史。也分析 *Saccharomyces cerevisiae* 本身的不同菌株和 *Saccharomyces boulardii*，而且能解釋提供位於系統發生史之下的進化情況<sup>(3)</sup>。另外有研究人員發展一個DNA微陣列於牽涉到侵入性的真菌病中真菌病源的檢出和確認。在DNA抽出後4小時就可得到結果，顯示此系統為臨床實驗提供具有潛力的方法<sup>(16)</sup>。

#### IV. 食品工業發展研究所 在酵母菌鑑定之努力

本所酵母菌鑑定於早期依形態、生理生化學特徵而發表鑑定 *Dekkera clausenii* 等數個新種和同種異名<sup>(16,17,18,19)</sup>。近年來，依化學及分子分類學實驗法，發表鑑定 *Candida galacta* 等新種和 *Candida versatilis*、*Candida halophila* 等數組同種異名<sup>(20,21,22,23,24,25)</sup>。同時，為解決產業用酵母菌難以用傳統方法鑑別之困難，運用分子層次之 RAPD 指紋法鑑定 *Saccharomyces* sensu stricto complex 的物種<sup>(5)</sup>；此外，以新的物種特異性引子，利用PCR技術為準的檢測，可用於

快速、準確地鑑定最頻繁出現的酸麵糰酵母菌種<sup>(6)</sup>；以  $\beta$ -微管蛋白( $\beta$ -tubulin)基因，利用定序以及限制性片段長度多態性(RFLP)的方法，以鑑別 *Saccharomyces sensu stricto* 菌株中的 7 個種<sup>(7)</sup>。現在酵母菌之 5S、18S、26SrDNA 等之序列研究在世界各處慢慢增加，待累積大量數據後，將會改變一些現有之分類體系。故鑑定方法上就是儘可能使用『現有的』，『有效(有區別性)的』，『多種的』方法，對當時的菌種做合理判定及區別。

## V. 結論

傳統的分類法仍適用於酵母菌之鑑定，但其缺點包括由於基因突變所引起的形態和生理特性之不穩定。因此，新的酵母菌分類趨勢是基因序列分析，故持續關注、搭配利用分子層次的鑑定方法，如利用 PCR 擴增 rDNA，例如 5.8S、18S、26S、ITS 等常被使用的標的片斷，或是運用 PCR 技術做 DNA 片段的分析 (RFLP、RAPD、AFLP 等)；rDNA 序列、持家基因(housekeeping gene)序列、蛋白質編碼基因(protein-encoding genes)序列等之分析比對、尤其結合多基因序列之分析方法 (Multigene phylogenetic analysis)，相當於細菌領域之多重基因座序列分型法(multilocus sequence analysis, MLSA)更能解決有些個別基因序列分析所無法嚴格判定之窘境。由於近代鑑定方法多採用多相分類學(polyphasic taxonomy)的方法，集合各種資料例如分子生物學的基因序列資料、細胞形態

學、生理生化學等，分析、考量所有數據後才能對菌株學名作判別。所以基於過去累積的研究結果，而能充分區別菌種之分子分類學 (molecular taxonomy) 的方法，能使鑑定服務更快速、正確地完成。基因序列分析已經成為近代極具貢獻價值之鑑定輔助方法。

## 參考文獻

- 1.J.A. Barnett, R.W. Payne, D. Yarrow, *Yeasts: Characteristics and Identification*, Third Edition, Cambridge University Press, Cambridge.(2000).
- 2.J.A. Barnett, R.W. Payne, D. Yarrow, *Yeast Identification PC Program. Version5*.Barnett:Norwich.(2002).
- 3.L.C. Edwards-Ingram et al., *Genome Res.* 14,1043(2004).
- 4.B. Esteve-Zarzoso, C. Belloch, F. Uruburu, A. Querol, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49,329(1999).
- 5.C.H. Huang, F.L. Lee, C.J. Tai, *J. Microbiol.Methods* 75,531(2008).
- 6.C.H. Huang, F.L. Lee, *World J. Microbiol. Biotechnol.* DOI:10.1007/s11274-009-0274-1. (2009).
- 7.C.H. Huang,F.L.Lee,C.J.Tai,*Antonie vanLeeuwenhoek*95,135(2009).
- 8.N.J.W. Kreger-van Rij, *The Yeasts, a taxonomic study*. Third revised and enlarged edition. Elsevier science Publishers,B.V.Amsterdam.(1984).
- 9.J.C.P.Kurtzman,J.W.Fell, *The Yeasts, a Taxonomic Study*. Fourth edition. Elsevier Science Publishers, B.V. Amsterdam.(1998).
- 10.C.P. Kurtzman et al., *J. Clin. Microbiol.* 43,101(2005).
- 11.C.P.Kurtzman,C.J.Robnett, *FEMS YeastRes.* 7,141(2007).
- 12.C.P. Kurtzman, J. Albertyn, E. Basehoar-Powers, *FEMS Yeast Res.* 7,1027(2007).
- 13.C.P. Kurtzman, *Antonie van Leeuwenhoek*92,221(2007).
- 14.C.P. Kurtzman, C.J. Robnett, *FEMS YeastRes.* 3,417(2003).
- 15.C.P. Kurtzman, *Mycoscience* 47, 65 (2006).
- 16.F.L. Lee, S.C. Jong, *Mycotaxon* 25, 455(1986).
- 17.F.L. Lee, S.C. Jong, *Mycologia* 78, 150(1986).
- 18.F.L. Lee, S.C. Jong, *Mycotaxon* 23, 275(1985).
- 19.F.L. Lee, S.C. Jong, *Mycotaxon* 23, 279(1985).
- 20.F.L. Lee, H.M. Fu, W.H., Hsu, *Int. J. Syst.Bacteriol.* 48,1463(1998).
- 21.F.L. Lee, C.F. Lee, S. Okada, K. Komagata, M. Kozaki, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 43,183(1993).
- 22.F.L. Lee et al., *Bull. Japan Fed. CultureCollection*8,11(1992).
- 23.F.L. Lee, C.F. Lee, S. Okada, K. Komagata, M. Kozaki, *Bull. Japan Fed.CultureCollection*8,71(1992).
- 24.Y.H. Lin, F.L. Lee, W.H. Hsu, *Int. J. Syst.Bacteriol.* 46,352(1996).
- 25.G.Y. Liou, Y.H. Wei, S.J. Lin, C.Y. Wen, F.L. Lee, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59,1813,(2009).
- 26.M.J.C.Maiden et al., *Proc.Natl.Acad. Sci.USA*95,3140(1998).
- 27.G. P' eter, J. Tornai-Lehoczki, D. Dlauchy, G. Vit' anyi, *Antonie van Leeuwenhoek*77,37(2000).
- 28.L. Putignani et al., *Mycoses* 51, 209 (2008).
- 29.A.Querol,C.Belloch,M.T.Ferna'n dez-Espinar, E. Barrio, *Int. Microbiol.*6,201(2003).
- 30.E. Stackebrandt et al., *Int. J. Syst. Bacteriol.* 52,1043(2002).
- 31.V.N. Thanh, D.A. Hai, M.A. Lachance, *FEMS Yeast Res.* 4, 113 (2003).
- 32.M. Ventura, C. Canchaya, D. van Sinderen, G.F. Fitzgerald, R. Zink, *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 3110 (2004).
- 33.D.R. Zeigler, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*53,1893(2003).

## 審定公告之專利寄存生物材料

資料範圍自 98 年 12 月至 99 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
防禦強制換羽毛受傷害之用劑/I318117	洛德乳桿菌( <i>Lactobacillus reuteri</i> ) NHL-2 唾液乳酸桿菌 ( <i>Lactobacillus salivarius</i> ) LH-8	910250 910251	可爾必思股份有限公司(日本)
抑制皮膚發炎、創傷治療微生物培養及製品/I318640	乳酸桿菌屬( <i>Lactobacillus</i> sp.)SIID1719-6b	910301	卡羅澤利亞日本有限公司(日本)
編碼乙醯乳酸生成酶之基因/I318642	稻米胚突變型ALS cDNA 4 稻米胚突變型ALS cDNA 1 稻米胚突變型ALS cDNA 2 稻米胚突變型ALS cDNA 3	940422 940425 940426 940427	組合化學工業股份有限公司(日本)/ 獨立行政法人農業生物資源研究所(日本)
耐高溫及耐乾燥酵母菌及篩選方法/I319779	啤酒酵母菌 ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )TtF20	920060	行政院農業委員會 台中區農業改良場
醣酵乳酸桿菌及刺激INF-γ 分泌治療過敏用途/I319780	<i>Lactobacillus fermentum</i> GM-090	910259	景岳生物科技股份有限公司
紅血球生成素受體結合抗體/I320716	人類293.12細胞株PTA-5554 人類293.467細胞株PTA-5555	960202 960203	亞培公司(美國)
編碼具有腈水解酶活性之蛋白質的DNA製造方法/I321151	<i>Geobacillus thermoglucosidasius</i> Q-6	910263	旭化成股份有限公司(日本)
BAFF受體，核酸及用途/I322181	抗-BAFF-R融合瘤#9.1 抗-BAFF-R融合瘤#2.1	960142 960143	生物基因艾迪克 MA公司(美國)

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
檢測發炎檢驗試片、方法、抗體及應用/200903071	C-反應蛋白單株抗體融合瘤細胞株 CRP	960352	嘉南藥理科技大學
綻草菌培養方法及施用/201006924	綻草菌根菌( <i>Rhizoctonia</i> sp.) R01	930101	行政院農業委員會 花蓮區農業改良場
耐高溫溶磷微生物及肥料製作/201006786	凝結桿菌( <i>Bacillus coagulans</i> )C45 史密氏桿菌( <i>Bacillus smithii</i> )F18	910392 910393	楊盛行

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81期

發行者：財團法人食品工業發展研究所

發行人：陳樹功所長

主 編：陳倩琪

編 輯：劉桂郁、黃麗娜、陳美惠、葉慧蓉

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

