

與生態環境共榮之基因轉殖策略

◎農試所農藝系　夏奇鈮、王強生

二十世紀生物技術的發展改變了我們對既有生命個體界線的認知，調控生命的奧密也呼之欲出，物種間界線逐漸模糊，但不同物種間共存共榮的關係卻更加密不可分。生物技術不只在生命科學認知上翻開了嶄新的一頁，更在生物、醫學、農業應用上開啓了另一個新的紀元。然而，隨著生物技術廣泛的應用，大眾對於生技產品衍生出來的環境，乃至於社會問題也有愈來愈多的疑慮，科學家眞有能力扮演上帝的角色嗎？還是我們正走在一條看似坦蕩其實後退無路的單行道。現實的世界裡，科學家雖然執著於眞理的探尋，但對於超越人類現有知識的未知，比起一般普羅大眾有著更多的戒愼恐懼，只不過科學家不會因爲不可預知就躊躇不前，反而會透過更多試驗經由知識的累積不斷修正方向，嘗試藉著新科技爲人類帶來幸福而非製造更多的問題。隨著地球環境的日趨惡化，世界各國不管是已開發國家或開發中國家都形成了強烈的共識，那就是未來人類如果想要繼續生存，必須發展出一個不僅能與環境共存，更要與環境共榮的生活方式，生物技術如何能幫助我們達成這個目標呢？大眾媒體常以出瓶精靈（the genie is out of bottle）形容目前的生物技術，出了瓶的精靈對主人而言到底是福是禍呢？

科學家在研究的過程中不斷解決許多問題，同時也製造新的問題，在Daniell（1999）這篇 “Environmentally friendly approaches to genetic engineering.” 的報告中，他針對幾個目前大家關心的轉基因植物所衍生出來的問題及其改進的方向提出具體的解決方案。Daniell明白的指出，未來如果不能解決有關遺傳工程所衍生的環境問題，不但會限制生物技術所帶來之好處，同時也將限制生物技術未來眞正可以達到之最大潛力。以下即爲這篇文章部分內容之節錄。大眾普遍關切之轉基因植物問題主要有下列三個：

問題一、經由花粉的傳播將轉基因植物的外源基因散佈於其近親野生種，而產生所

作者：夏副研究員奇鈮
聯絡電話：04-23302301轉141

謂的超級野草。基因改造植物藉由花粉將外源基因傳播於附近之同種或野生種作物時有所聞，其中又以抗殺草劑基因的流散最被關切。以向日葵研究爲例，在28-38%野生種向日葵中已發現有轉殖植物所用之標誌基因，而在轉基因草莓田50公尺內生長之野生草莓有50%發現含有標誌基因。

問題二、目前育成之抗蟲轉基因植物皆爲大宗農藝作物，如玉米、大豆、棉花等，主要利用之基因爲蘇力菌蛋白毒素基因（Bt, *Bacillus thuringiensis*），帶有Bt基因之轉殖作物因可施用較少之殺蟲劑而被農民廣泛種植。大家都知道，一般作物在自然界中不只受到一種昆蟲的危害，而不同種害蟲對Bt之毒性具有不同程度的抗性，因此僅依靠少數Bt基因將有可能引起非主要害蟲產生對Bt基因之抗性；此外大量的轉殖作物僅依賴少數同質性極高之抗蟲基因，可能因此加速昆蟲產生抗藥性。以轉基因棉花爲例，所轉入之基因爲Cry1Ac，主要針對之害蟲爲菸草蛾 (tobacco budworm)， 但次要之害蟲如行軍蟲 (armyworm) 及棉鈴蟲 (cotton bollworm) 也會受到影響，但因基因Cry1Ac（主要用於轉殖棉花）及 Cry1Ab（主要用於轉殖玉米） 其核酸序列相似性高達90%，因此更有可能加速害蟲產生抗藥性。

問題三、爲篩選轉殖植物而同時轉入之抗生素基因，雖然在轉殖植物篩選確定後即完成其階段性任務，然而其繼續存在生產的基因產品中，卻有可能會造成人們常用之口服抗生素失效，或有轉移至其他有害菌類中使其產生抗藥性之虞慮。

對於上述轉基因植物可能衍生的問題Daniell氏提出的解決之道如下，他認爲目前大部分基因轉殖皆以轉入標的植物之細胞核染色體爲主，但如果能將外源基因轉殖至葉綠體而非細胞核之染色體，則可因葉綠體爲母性遺傳（花粉中不具葉綠體），避免了花粉傳播外源基因之可能，尤其目前普遍使用之抗殺草劑基因，其作用之生化途徑就是發生於葉綠體中，如將抗殺草劑基因轉殖於葉綠體中更可因此提高基因表現之效率。以廣效性之殺草劑嘉磷塞（glyphosate）爲例，其作用主要是在競爭芳香族胺基酸合成途徑中之5-enol-pyruvyl shikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) 酵素，因這項作用機制只發生於植物及微生物，因此不會對其他生物產生危害，此外glyphosate在土壤中分解迅速且移動性差，分解成天然物後對植物外之生物幾乎無害，可以說是一種相當環保的殺草劑，但其缺點爲缺乏選擇性及清楚之施用劑量。以菸草爲例，如將外源基因轉殖於葉綠體，每個菸草細胞約有5,000-10,000個葉綠體（卻只有一個細胞核），這也是爲什麼基因轉殖到葉綠體可以有更高基因表現率的原因。

爲減緩害蟲對Bt基因產生抗藥性，可以從多方面下手，如加強基因的表現、增加基

因累加性（同時導入多種基因）及限定基因於特定組織中表現等。前面已經提過葉綠體轉殖提高基因表現的優點，組織表現的特異性則是葉綠體基因轉殖之另一項優點，花粉缺乏葉綠體可避免花粉污染的問題，抗蟲基因主要表現於害蟲所喜食之葉片，在植物體其他不具葉綠體之果實、花或根含量甚少或根本不表現，可降低基因產物短時間內對非主要害蟲及其他生物之影響。

葉綠體是植物進行光合作用之胞器，擁有自己獨立並具原核生物特性之遺傳物質。早期之葉綠體轉殖因需將完整之葉綠體分離出來，增加了轉殖困難度，然而應用特殊基因序列及載體之構築，配合普遍使用之基因鎗轉殖法，已可以讓葉綠體轉殖與一般細胞核之基因轉殖無異，大大增加了葉綠體轉殖之可行性。目前葉綠體轉殖已有利用篩選用基因（報導基因）在轉殖菸草中表現之實例，但有用基因的葉綠體轉殖實例目前只有抗蟲Cry2A基因之菸草，其抗蟲表現可達細胞核轉殖之抗蟲菸草的40,000倍，對蟲的致死性更高達100%。分析原因可歸納爲下列幾點：1. 葉綠體的原核生物特性，使來自原核生物之Cry2A基因有較佳之表現；2. 每個細胞含高拷貝（copy）基因數；3. 同屬於原核生物遺傳特性之葉綠體，可將多個基因置於同一操縱子 (operon) 控制下共同轉錄表現，有助於最後晶體蛋白表現之穩定性。

關於用來篩選轉殖植物常用之抗生素基因，美國食品藥物管理局(FDA) 研究指出，常用之kanamycin或neomycin因屬藥性較強之抗生素，一般很少會被用來口服，因此影響較少；且截至目前爲止之研究，尚未觀察到有任何基因可由植物轉至微生物之機制發生。雖然如此，不含抗生素基因之轉基因植物應該是較能被消費者接受的方式。避免使用抗生素基因可以有幾個替代方案，例如可以抗殺草劑基因代替抗生素基因，其優點除避免使用抗生素基因外，殺草劑基因本身即爲有用基因，如果合併利用葉綠體基因轉殖則其表現僅限於有葉綠素之綠色組織，可謂一舉數得；另外一種方式爲將篩選基因與有用基因分別構築於不同之轉殖載體，採用共同轉殖 (co-transformation)，由於這兩個不同基因可能分別插入染色體之不同位置，因此可以利用傳統雜交後代分離方式，在第二代將這兩個不同基因分離，保留不具抗生素之轉基因植株；第三種方式是利用將非自主性轉位子（transposable elements）與抗生素基因共同轉入，於第二階段再將自主性轉位子（transposase gene）引入而活化非自主性轉位子後將抗生素基因移出。

葉綠體轉殖雖然有上述許多的優點，但其困難主要受限於我們對葉綠體中非功能性基因間隔區所知不多，因爲首先必須先根據這些非功能性基因序列設計轉殖用載體，使

位於載體左右邊界序列中之基因，能夠經由左右邊界序列與葉綠體中現存之間隔區序列發生同源重組（homologous recombination）作用，進而將外源基因轉入特定位置，因此一個設計良好之載體將對轉殖有很大的幫助，也因爲轉殖載體序列的精確性，可將一般染色體組轉殖經常產生之逢機位置效應影響降至最低。除了構築轉殖載體之限制因子外，一般轉殖最常用之胚性細胞通常並非由葉肉細胞而來，因此往往僅含有原質體（proplastid）而非成熟之質體（plastid），這一點則對利用葉綠體基因轉殖形成再生植株有較不利之影響。此外另一個讓人擔心的問題是，葉綠體轉殖植物高度表現特定基因產物之特性，可能對作物生長及產量造成不利之影響，這一點在葉綠體轉殖菸草上並未發現，但進一步對於其他葉綠體轉殖農作物田間表現之觀察，將可以在這一方面更多之瞭解。

總而言之，葉綠體基因轉殖加強了許多生化途徑發生於葉綠體之基因表現，此外葉綠體基因轉殖主要之好處在於外源基因表現率的提高，一般細胞核染色體轉殖基因所生產之成分可粗分爲佔全部蛋白質含量0.001-0.01-1% 之間，但葉綠體轉殖所生產之基因產物卻可達總蛋白質之30%，主要原因就在於基因表達程度之差異。以植物爲生物工廠製造各種醫藥有用成分的觀念早已有之，可行性主要取決於基因在細胞內之表現程度，葉綠體基因轉殖的高蛋白質表現率，使這個植物工廠之構想具體化。此外葉綠體基因轉殖只在綠色細胞表現的特異性，亦可避免花粉細胞攜帶外源基因污染近緣植物的可能性。

來勢洶洶的生技產品可以說已是無所不在，加入WTO後貿易障礙漸除後，將有更多農產品叩關，一般大眾即使對轉基因作物心存抗拒，恐怕也防不勝防，政府除了儘量做好風險評估的把關工作及明令產品須正確標示外，相信經由轉殖方式及分子生物學的不斷進步，誠如本文所提供的各種替代方式，這些負面的問題將來皆能一一克服，未來轉基因作物之育成除了產品本身質與量的提昇外，一般大眾更可受惠於農藥、肥料的減少使用，使得生態環境污染逐漸降低，眞正達到農業永續之目的。

參考文獻

Daniell H. 1999. Environmentally friendly approaches to genetic engineering. In Vitro Cellular & Developmental Biology- Plant 35:361-368.