

植物基因轉殖在作物改良上之應用

台中區農業改良場／蔡奇助

基因轉殖的理論與發展

自從 1953 年華生與克立克發現 DNA 雙股螺旋結構後，奠定日後 DNA 重組技術。至 1970 年代，細菌中之質體 DNA 大量被應用在重組 DNA，加速基因重組的研究。1980 年代後重組 DNA 與組織培養之技術整合，造就往後基因轉殖的蓬勃發展。而且在生物化學、遺傳學及細胞學之進步下，1985 年聚合²連鎖反應誕生，由於此技術操作簡單、迅速。因此，已被大量應用在各個生物相關領域，且皆能有突破性的發展。應用於基因轉殖上，更加速此領域之發展。基因轉殖對新品種的育成，極具潛力。目前已有許多經基因改造的作物已育成，且商品化，在未來的發展指日可待。

基因轉殖之進行共可分三個階段：(一)將有興趣的基因(或稱目標基因)先行修飾包裝。簡單的說是將有興趣的基因(DNA 片段)從某種源之基因組分離出來，再將之接於易操作的質體 DNA 中。(二)將包裝好的基因送入植物細胞中，使之能進入植物細胞之染色體(chromosome)中，使之能穩定存於細胞中。(三)鑑定及篩選已轉殖成功之細胞或植株。上述三個過程中，有興趣之基因的包裝與轉殖成功細胞或植株之篩選方式較固定，而如何將包裝於質體 DNA 中的基因送入植物細胞中的方式就有很多種，分述如下：

農桿菌轉殖法

自然界中之植物農桿菌(或稱腫瘤菌，*Agrobacterium* spp.)之細胞內含有會使植物產生腫瘤之質體，稱之 Ti 質體(tumor inducing plasmid)。這種質體會於農桿菌感染宿主植物時嵌入植物的染色體 DNA，達成穩定的基因轉移。因此，只要事先將目標基因插入 Ti 質體，且將 Ti 質體中會造成植物產生腫瘤的基因去除，即能有效達成基因轉殖之目的。

電穿孔處理法(electroporation)

此技術乃將植物組織浸於大量目標 DNA 溶液中，通以瞬間高電壓之直流電，此時細胞即很容易吸收大量外來的 DNA。但進行此技術時，需先將植物之細胞壁除去，以原生質體的形態進行，待轉殖成功再利用組織培養使之再生。

花粉管導入法

1983 年中國科學院周光宇教授首創，利用針筒將目標 DNA 直接由

柱頭注入，再篩選種子，即可得轉殖成功之植株。

粒子槍導入法

將載有外來基因的質體核酸包以高密的鎢粒子(~1 μ m)，使之成一微小物體，用粒子槍 (particle gun) 高速打入植物細胞中，經組織培養篩選，即得轉殖植株。

微量注入法 (microinjection)

此法於顯微鏡下，使用毛細管將外來基因直接注入生物細胞之原生質中，經組織培養，即得轉殖植株。

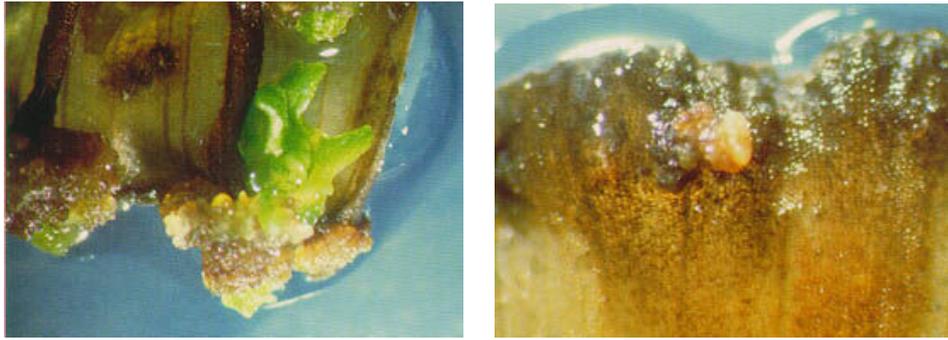
上述幾種轉殖技術中，以農桿菌轉殖法與粒子槍導入法所得到的轉殖植株較穩定，且已廣泛運用於植物之基因轉殖上。

植物基因轉殖在作物改良上之應用

自然界中的生物資源即是一座龐大的基因庫，有各式各樣的基因存在，各種基因扮演著不同的角色，我們可以利用基因轉殖技術將甲生物之有用基因移至乙生物上，以達成作物的性狀改良。由於基因沒有分彼此，不管目標基因是來自動物、植物或微生物等，皆可將之利用，改善農作物的性狀，突破種間隔離，對育種來說是一大革新。因此已有許許多多有用的農藝或園藝性狀的基因，已在進行基因轉殖之研究，分述如下：

抗蟲基因之轉殖：

自然界中有些物種原本對昆蟲即有抗性，這些物種的抗性來自其內在的抗蟲基因。若能將之分離、選殖，並轉殖於農作物上，可以降低殺蟲劑的使用，既節省成本，又可減低對環境的污染。如蘇力菌的殺蟲基因，此係蘇力菌在產孢時期會產生結晶毒蛋白，這類結晶蛋白經昆蟲腸道內高鹼性及蛋白質銹作用，分解成毒素，殺死昆蟲。而且這種結晶毒蛋白對人體並不會造成傷害，因此自1990年後已大量被轉殖於作物上，以增強作物之抗蟲性。另外，尚有許多植物之抗蟲基因被分離、選殖，如蛋白質抑制劑 (proteinase inhibitor) 之基因，由於昆蟲腸道內存有蛋白質銹，若將此酵素抑制，昆蟲即因不能分解蛋白質來利用而死亡。上述蛋白質銹抑制劑經煮熟後即可破壞，因此亦是一種有效，且可供應用的抗蟲基因 (如圖)。



圖、從甘薯分離、選殖之胰蛋白銻抑制劑基因，經農桿菌轉入菊花阿來粉品種，在抗生素培養基篩選下，所得初步擬轉殖植株(A)；未經轉殖之組織無法在含抗生素之培養基生存(B)。

抗病基因之轉殖

抗病基因的分離、選殖亦進步很迅速，其中較常利用的是反義(antisense) RNA 基因技術，與植物病毒交互保護理論等。反義基因乃經轉入外源基因於植株中，鎖住病原體所產生的 mRNA，使之形成雜交 RNA 雙股，以抑制病原體的基因表現。而植物病毒之交互保護是利用植物若受一種病毒感染，其它病毒即無法感染的特性行之。因此，我們僅需將會產生病毒鞘蛋白的基因轉入植株中，此植株即因植物病毒之交互保護而產生抗病性。如抗胡瓜嵌紋病毒、抗木瓜輪點病毒等基因之轉殖，目前已有許多成功的例子。

延緩採收後老化基因之轉殖

植物老化影響作物品質與貯藏期限甚鉅。據估計，因作物採後不耐貯存而造成之損失高達 40%。目前認為造成採後農產品快速老化的因子是農產品產生內生性乙烯，乙烯的形成加速農產品的成熟、老化。現今由於乙烯整個生化合成途徑已相當了解，因此有許多抗乙烯合成基因已被分離、選殖，如 ACC 合成酵素基因，我們僅需將 ACC 合成酵素基因的反義基因轉入植株中，由於此基因的表現，抑制了植物體內正常 ACC 合成酵素基因的表現，使乙烯無法生合成，而延緩農產品老化。

花色、花形基因之轉殖

花色常常是決定花卉作物價值的重要指標之一。目前市面上商品化的花卉，皆經自然界中原生花卉改良、培育而來。若某類花卉的原生種源之花色基因種類少，即會限制該類花卉培育各式花色潛力，因而影響該花卉普及化。由於生物技術之快速發展，目前已有許多色素合成基因已被分離、選殖，而且已被應用於花色基因之轉殖上，成功地創造出新的花色品種，如矮牽牛的磚紅色品種之育成，即轉入一外源花色基因而來。另外，在花形的改造方面，已有許多控制花形的基因被

發現、選殖，如有個稱之為 AG 的基因，在植物中若此基因失去功能，那麼其花朵之雄蕊與雌蕊皆會變成花瓣，因此，就變成重瓣花。以百合花為例，雖具艷麗色彩，明顯的花形，但雄蕊之花藥常常困擾著消費大眾，因此若能改造出沒有雄蕊且又重瓣之百合花，應更受消費者青睞。

控制開花間之基因的轉殖

植物都有其特定的開花時間，而此時間受外界環境因子，與內在基因所調控。植物可能因某個基因失去功能，即造成開花時間提早或延遲。目前已有許多影響開花時間的基因被選殖出來，且應用於轉殖之研究，如 LEAFY 基因從阿拉伯芥中被選殖出來，此基因能促進開花提早。將之轉入白楊樹，並大量表現，使原本需十幾年才會開花的白楊樹，縮短至六個月就開花。因此，若能善用調控開花時間之基因，我們就可以從事產期調節或花期調節，以降低產銷失衡的情形。

另外，還有一些基因對改善農作物品質有幫助，如耐旱、耐寒、耐逆境、固氮及提高光合作用效率之基因等。當然有些性狀並非由單一基因所控制，是由多個基因所共同調控，利用重組 DNA 轉殖此類性狀，困難度就相當高。但可預見的，將來會有更多的基因被分離、選殖，並應用於轉殖研究，以提高作物品質，造福人類。