

農桿菌在植物基因轉殖上之原理及應用（上）

王啓正 2000-09 花蓮區農業專訊 33:22-23

前言

植物基因轉殖技術近年來持續地進步，已成為作物品種改良的新方式。科學家可以將想要植物表現的特殊基因（稱為外源基因）放在植物中，讓植物原本沒有的性狀表現出來，這種將外源基因導入生物體的過程稱為基因轉殖。以前的科學家如果要將特殊基因導入栽培種，必須經過長時間的育種過程，而且擁有這種特殊基因的親本還必須可以跟栽培種雜交才行；基因轉殖技術則不需要有這些限制，轉殖技術一旦成功的建立起來，擁有特殊性狀的新物種將會在短時間內大量產生。然而基因轉殖的方法有很多，本文針對利用農桿菌這種細菌來轉殖基因的方式做一個介紹。

利用農桿菌轉殖基因的原理

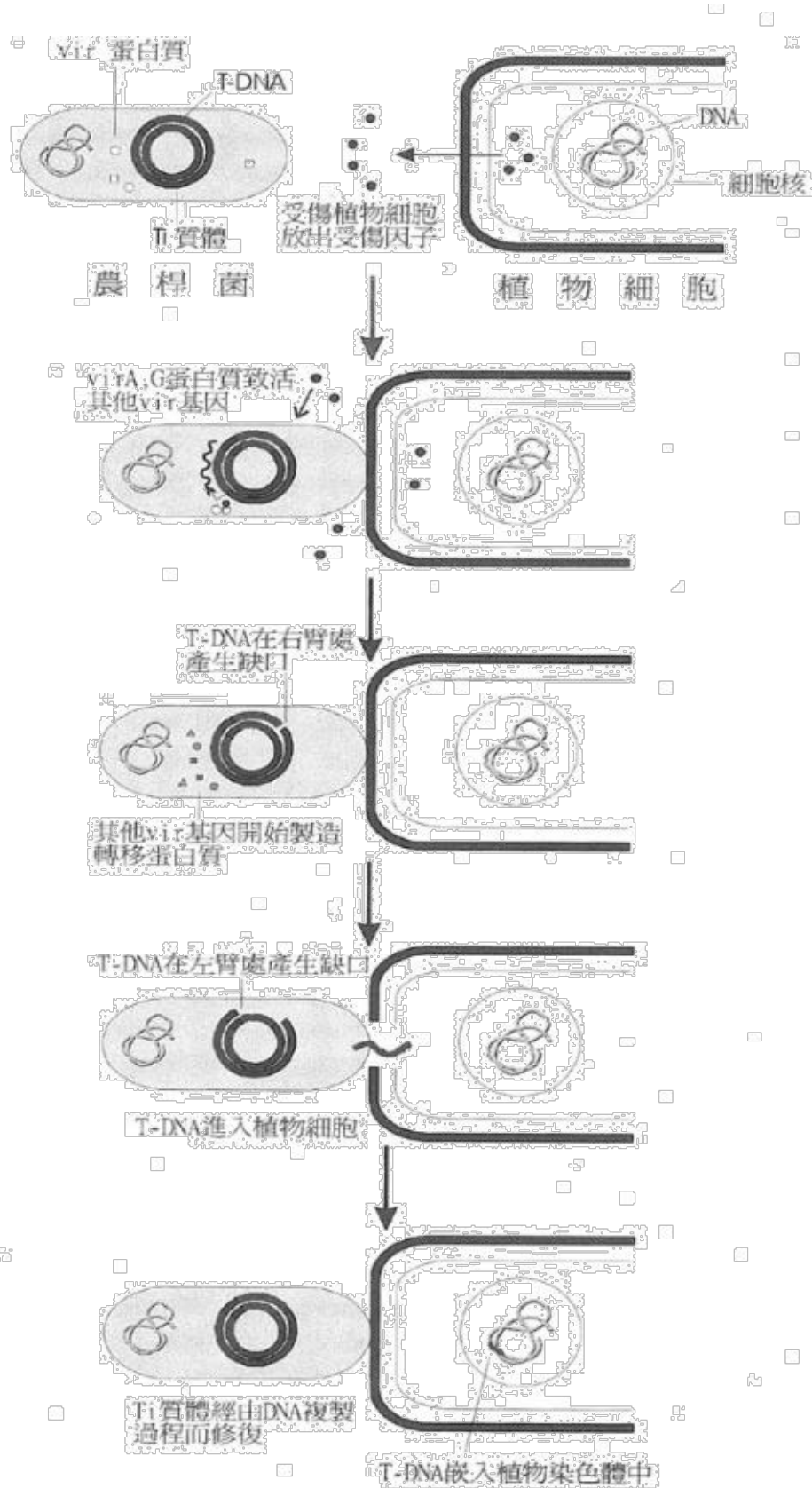
農桿菌是一種在土壤中生活的植物病原菌，可經由植物的傷口感染形成冠瘿腫瘤及毛狀根群兩種病徵，分別為農桿腫瘤菌及農桿根群菌所引起的。農桿菌體內有兩個與遺傳有關的構造，即染色體及質體；染色體主要為去氧核糖核酸（DNA）分子所構成，負責控制農桿菌本身的遺傳機制，而質體是一個大型雙股環狀的 DNA 分子，與引起植物病徵有關。在農桿腫瘤菌中稱這種質體為 Ti 質體，在農桿根群菌中則稱為 Ri 質體。

農桿菌感染植物後，Ti 及 Ri 質體上面有一段 DNA 會轉移至植物細胞內，並嵌入植物細胞染色體中，這時候這段 DNA 所控制的性狀就會在植物上表現出來，植物的病徵即其中性狀之一，這段會移動的 DNA 名字叫做 T-DNA。我們可以利用農桿菌這種特性，將 Ti 質體上的 T-DNA 改造並加上外源基因，再藉由農桿菌的幫助及 T-DNA 的作用將外源基因嵌入植物，使植物原來沒有的特殊性狀表現出來。

T-DNA 片段兩邊上都是一種不連續的邊緣區域各稱為左邊緣 DNA 及右邊緣 DNA，T-DNA 如果沒有這兩個片段則無法嵌入植物染色體中；這兩段片段可共同或單獨地送入寄主植物體內，任何一段外源基因如果接在於兩者之間，或僅接於任一端之旁，都可以被轉移至寄主植物中，甚至表現出來。T-DNA 另帶有一段重要基因可使寄主植物製造一種稱為 opines 類的胺基酸，植物雖然無法利用這種物質，但可供農桿菌分解做為養分，使農桿菌得以生長、繁殖，這段基因如果被切掉，農桿菌則無法繼續繁殖及感染植物。此外，引起植物腫瘤的基因也在 T-DNA 片段中，這些基因引起植物負責控制生長的荷爾蒙比例不平衡，使感染部分及鄰近細胞不正常分裂而產生冠瘿腫瘤。這些腫瘤基因可以切除，以免轉殖成功的植物發生不正常的病徵。

Ti 質體上另外有一段基因叫做 vir gene，與 T-DNA 移動到植物細胞中的作用有關，可分為 vir A、vir G 及 vir B,C,D,E 兩群基因，當植物傷口附近受到農桿菌的感染時，vir A 及

vir G 基因控制產生的蛋白質便會被植物受傷後產生的酚類化合物所刺激，之後，兩者聯合作用刺激其他的 vir gene，這些 vir B,C,D,E 基因便開始作用製造轉移蛋白質及相關酵素，這種轉移蛋白質可使 T-DNA 順利地嵌入植物 DNA 中，如圖一。其中的 vir D gene 負責製造的蛋白質為一種內切酵素，這種酵素可在 T-DNA 位於 Ti 質體的邊緣位置上切出缺口，將 T-DNA 從 Ti 質體上切離；vir E 則是製造可以和 T-DNA 結合的蛋白質，這種蛋白質與 T-DNA 結合後會辨認植物細胞核的位置，使切離後的 T-DNA 順利轉移至植物細胞核中。



圖一 T-DNA 轉移並嵌入植物細胞染色體中的過程 (改繪自 Recombinant DNA, 1992)

