

## 百合水仙轉殖螢火蟲

### 螢光酵素基因

林學詩 1999-12 花蓮區農業專訊 30:12-15

#### 百合水仙簡介

百合水仙是阿爾氏科(Alstroemeriaceae)的多年生、單子葉花卉植物，英文名字稱為「Alstroemeria」，在台灣市面上很少看得到，只有在霧社高冷地有農家栽培，種植面積約僅二公頃而已。「百合水仙」在國內被人叫久了之後，又變成「水仙百合」，其實它既不是百合，也不是水仙，花形花色看來倒有點像杜鵑花，枝條跟葉子看來有點像百合。其實它也沒有英文名字，Alstroemeria 是它的屬名，也就是學名的前半段，大家都這麼將就的叫它。這個奇特的花，中英文名字都很怪異，為什麼會這樣呢？原來它是原產在南美洲的植物，北半球原本沒有，瑞典植物學家林奈氏最早是從他南美洲來的學生 Claudius Alstroemer 獲得這種植物，所以就以他的姓氏來命名。



經過改良後的百合水仙栽培品種

百合水仙主要作為切花，引進歐洲作為觀賞花卉的歷史並不長，根據文獻記載，在 1970 年代英國才開始有花卉育種家進行品種改良工作，最初育成的品種以黃色、橙色系列為主，花期集中在 5 月到 8 月間，品種不多，但其特殊的花形、花色卻相當的吸引人。

之後荷蘭人積極引進栽培，並大量蒐集原生種，進行有系統的育種工作，由於雜交工作需時甚久，又有種間雜交障礙問題存在，因此他們首先在 1970-80 年代，以放射線照射百合水仙的根莖生長點，促使產生枝條變異，而成功地育成許多新品種。80 年代後期開始利用胚培養法，克服種間雜交障礙，育成許多品種，使得許多南美洲原生種的特殊花色、花形基因能夠結合到栽培品種中。於是到了 90 年代，這個花卉作物的品種更加多樣化，各種花色幾乎都有(藍色及黑色除外)，而且花期變長了，在溫室中幾乎可以全年生產切花。

百合水仙近十年來在荷蘭花卉市場上一枝獨秀，栽培面積年年成長，絲毫不受大量進口花卉之影響，1997 年的栽培面積為 113 公頃，全部都是種植在溫室中，年拍賣金額約為新台幣 14.4 億元，換算每公頃產值約為新台幣一千二百七十餘萬元，為荷蘭切花作物中排名第 8 的重要花卉，其受重視與受歡迎的程度，由此可見一斑。



百合水仙紅花的原生種，花小而不顯眼

百合水仙品種在荷蘭人手中已經改良得非常多樣化了，但他們並不以此為滿足，到了 90 年代初期開始構思利用現代的生物技術，創造出更不一樣的新品種。1989 年荷蘭國內的四大百合水仙育種及種苗公司，聯合研擬一個大型育種計畫，並提供大筆研發經費給荷蘭農業大學植物育種系（包括提供博士研究生員額），進行一系列的研發工作，企圖從根本上解決品種改良之難題，而其成果則直接轉移給各公司。筆者在 1994 年進入育種系進修，正好有機會參與其生物技術育種研發工作，此項研究工作從 1989 年到現在一直沒間斷過，前後有 4 個博士後研究員、6 個博士研究生、以及 10 多個碩士研究生參與，我們每半年要向公司們作研究成果簡報，研發團隊的壓力一直很大，但 10 年來所累積的成果卻是相當的豐碩。

### 什麼是「基因轉殖」

目前國內很多人在談「生物技術」產業，使得這一個領域變得很熱門，大家都認為：生物技術產品是未來我國在高科技上，能夠與先進國家一較長短的項目之一。其主要原因是這項產業的性質，有點像工業方面的半導體產業，是一種不依靠粗重勞力，也不太需要大量土地，而要靠腦力、技術、以及資本密集的產業，所以可能是未來我們可以與人放手一搏之所在。「基因轉殖」是生物技術中重要的一環，也是一項綜合技術，其原理頗為複雜，簡單地說，是將特殊的基因(例如植物的抗病性、抗蟲性等)，透過生物技術手段（例如農桿菌、電穿孔、或基因槍等等），轉移到植物身上去，使其特性表達出來，以達到品種改良的目的。

想要把一個特殊的基因，從甲植株轉到乙植株身上去，用傳統的育種技術是做不到的，只能靠雜交授粉的方式，把甲植株的花粉授到乙植株的柱頭上去，之後乙植株結了果實、種子，經播種後長出植物，這時特殊基因的性狀才會在下一代植株身上表現出來，而且也只能在同物種間進行。想在不同物種間傳送基因，例如把冬瓜抗病毒病基因傳到西瓜裡去，用傳統育種技術更是做不到。如果想要把動物基因轉移到植物身上去，那簡直是天方夜譚。但如今透過生物技術，這些困難已經逐漸獲得突破，基因不但可以在不同植物物種間轉移，甚至動物基因也可以轉移到植物身上去，這就是「基因轉殖」科技的奧妙之處。應用這項技術產生的產品則通稱為「基因修飾產品」，目前世界上已經有許多基因修飾的農產品問世。

## 百合水仙植物再生系統之建立

進行基因轉殖之前，首先必須要建立一套有效率的植物「再生系統」，什麼是「再生系統」呢？其實就是一種植物繁殖系統，例如培養根、莖、葉、花、胚莖.....等等植物器官，從其表面再生出新植株的技術。只是基因轉殖技術，是透過單細胞分子層次在進行，所以要建立再生系統，就要從單一細胞開始，也就是說從單一細胞，可以分化成整個植株的程序，這個程序要先建立起來。再生系統之建立，通常都是以組織培養的方式來達成，所以組織培養，是基因轉殖的一個關鍵技術。



轉殖螢火蟲螢光酵素基因之百合水仙組織培育

癒傷組織的細胞還沒完全分化，比較接近單細胞型態，所以常被用來作基因轉殖的起啓材料。首先取百合水仙幼苗的莖部，在培養基上誘導產生癒傷組織，再把這些癒傷組織，放在一種含有特殊植物生長素(picloram)的培養基上面培養，則它們會不斷地增殖，變成非常大量的細胞，其外表呈粉末狀，顏色為黃白色，生長活力很旺盛。如果把這些癒傷組織移到含有生長分裂激素(BA)的培養基上培養，則它們會逐漸發育變成體胚，最後發芽變成完整植株。由於癒傷組織可以循環地產生，並且在換培養基後會分化成完整植株，於是整個植物再生系統就建立了起來。單子葉植物的再生現象比雙子葉植物複雜得多，所以建立這個再生系統前後花了大約 2 年的時間，所幸其細胞再生效率很高，對於其後的基因轉殖試驗幫助很大。

## 螢光酵素基因之轉殖

在我們所研究的基因中，有一個是螢火蟲的「螢光酵素」基因，是由美國的研究單位所提供，這項研究的結果很有意思，值得在此詳細介紹。

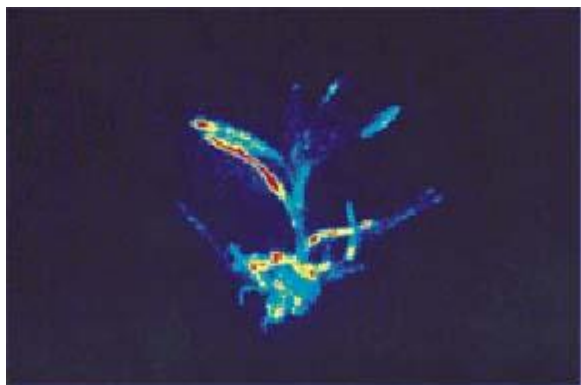
螢火蟲的尾部為什麼會閃閃發光？根據科學家研究得知，螢火蟲的體內含有一種叫做「螢光素(luciferin)」的蛋白質，此外還有一種叫做「螢光酵素(luciferase)」的物質，當這兩個東西碰在一起，再加上螢火蟲體內的能量催化，結果就會產生一閃一閃的螢光。

螢光酵素的產生是由一個簡稱「luc」的基因所控制，科學家很早就注意到這個基因，於是用遺傳工程技術把這個基因抓出來，並且構築到農桿菌體內的質體上去，以便於進一步利用來作基因轉殖研究。1986 年科學雜誌(Science)上發表一篇非常有名的論文，Ow 等科學家將螢光酵素基因，成功地轉殖到菸草植物上去，把螢光素噴到植物體上後，在黑暗中，轉殖的菸草植株會像螢火蟲一樣，發出閃閃螢光，並有圖為證，這是世界上首次報導動物性的螢火蟲基因，轉移到高等植物的例子。



我們做的研究則是把螢光酵素基因轉殖到百合水仙植物中，也許讀者會問，為什麼要把百合水仙弄得像螢火蟲呢？其實這不是研究的目的，只是整個研發過程中的一個手段而已，螢光是一個很好用的指標，好讓以後轉殖進去有用的基因容易辨認。

前面提到「基因」要先「構築」，所謂「基因」在分子遺傳學上來說，就是染色體上的去氧核糖核酸(DNA)片段，所有的遺傳訊息就貯存在上面。特殊 DNA 片段一般是構築在特殊的載體上（例如農桿菌的 Ti 質體），怎麼構築呢？就是利用酵素將 DNA 片段粘接到質體中。質體本身也是 DNA，具有特殊功能，一旦進入植物細胞之後，它會協助將構築好的特殊 DNA 片段，嵌合到植物染色體中特定的位置上，成為植物染色體的一部份，也就是說植物細胞獲得了一段外來的「基因」。常見的 DNA 構築具有一段報導基因（例如本研究中的螢火蟲螢光酵素基因 luc），轉殖成功的細胞當噴上螢光素後，在黑暗中會發出螢光，如此研究人員可以很容易的察覺轉殖是否成功。此外，螢光酵素基因本身也是一個很好的選拔指標基因，在研究的過程當中，利用螢光檢測器，可以很快的看出那些會發光的細胞是轉殖成功者，其餘只是普通細胞，這樣在試驗初期，很容易能夠在成千上萬的細胞中進行篩選工作，把不要的細胞去掉。



百合水仙轉殖植株發出螢光之情形

基因轉殖試驗是利用「基因槍」來達成，其實「基因槍」並不是真槍，只是一種機械裝置。其操作原理簡單地說，是將攜帶含特殊基因之去氧核糖核酸(DNA)，吸附在「金」粒子上，然後在一個密閉真空的機器（即俗稱的基因槍）裡，利用氬氣急速推動，打入植物材料（例如葉片、莖節、鱗片、莖頂、癒傷組織等等）的細胞核中，使這外來的 DNA 中帶有特殊基因之片段，嵌入植物體本身染色體的 DNA 裡，成為植物染色體之一部份，這個步驟就稱之為「轉殖」。之後這些經過基因轉殖的細胞，逐漸發育成為植株，於是外來的基因便會在這些轉殖植物體上表達出來，進而達到基因改造之目的。

這項研究在 1997 年時宣告成功，我們的研究室乃成為世界上第一個成功的將外來基因轉殖入百合水仙者。轉殖成功植株，由於體內自己會產生螢光酵素，因此噴上螢光素之後，放在黑暗中，會放出螢光。附圖是利用螢光檢測器上的高感度攝影機所拍攝的電腦影像照片，曝光時間為三分鐘，植物全身各部位都會發出微弱光點，照片上顯示的圖像乃是由無數光點所組成，顏色從藍色、綠色、黃色、到紅色，顯示的是螢光強度的大小，顏色愈紅則該處發出的螢光愈強，反之則愈弱。

轉殖報導基因成功之後，接下來要做的是轉殖有用基因，例如抗病毒病基因，目前這項研究工作還在進行。其做法是把抗病基因，接在螢光酵素基因的後面，一起轉殖進入百合水仙，以後在實驗過程之中，只要篩選會發螢光者，就有可能帶有抗病基因，進一步再經田間測試，而得到抗病植株。

基因轉殖科技的發展，打破了傳統遺傳育種的極限，能將從前認為不可能的事變成爲可能，因而引起世界各國重視，咸認爲將造成農業科技再一次的大革命。百合水仙是荷蘭最具競爭力的花卉作物之一，由於是多年生，常年種植在溫室裡，如果感染到病毒病，則產量會大幅下降，使農家損失慘重，因此全園植株必須更新，但種苗更新所需費用極爲龐大，這是產業上碰到的瓶頸。未來利用基因轉殖科技，這個問題將會獲得解決，使百合水仙產業再向前邁進一大步。台灣地處亞熱帶，終年高溫多濕，成爲各種病蟲害滋生的溫床，農家每年花在病蟲害防治的費用非常驚人，而農藥對人體及我們生活的環境傷害亦非常大，未來我們應善加利用生物技術，增強作物的耐抗能力，以逐步地解決這些問題。