

出國報告(出國類別：研習)

基因轉殖、非基因轉殖及有機農業共存模式之建立
Establishment of GM and Non-GM crop coexistence
model

服務機關：行政院農業委員會農業試驗所
行政院農業委員會種苗改良繁殖場

姓名職稱：吳明哲研究員兼組長
孫永偉助理研究員

出國期間：98年10月14日至10月25日
報告日期：98年12月10日

摘要

目前台灣政府相關主管機關對於基因轉殖作物的發展，採取鼓勵研發嚴格管理之立場，因此台灣雖然目前並無基因轉殖作物獲得核准可以商業化推廣栽培，但是政府相關研究機構之基因轉殖作物的研究仍然積極進行，此外，由於台灣是基因轉殖大豆與玉米之進口國，基因轉殖大豆與玉米對於環境生態的影響及其對人類食品安全之評估亦為重要議題。美國是目前全球基因轉殖作物研發最為進步的國家，各生技公司研究方向亦為台灣各界所重視，本項出國研習之目的即為研習美國生技公司基因轉殖作物之研發過程及其對於環境生態的影響及其對人類食品安全之評估。

本次赴美研習內容包含有關基因轉殖作物研究之基因選殖、基因轉殖技術、基因轉殖作物成分分析、基因轉殖作物風險評估與法規、基因轉殖與非基因轉殖作物共存制度、分子標誌輔助育種技術等。參訪機構與地區分別為位於維吉尼亞州首府李奇蒙市(Richmond)之維吉尼亞州立邦聯大學(Virginia Commonwealth University, VCU)生物系、北卡羅萊納州首府洛利市(Raleigh)著名的科技「三角研究園區」(Research Triangle Park)之生技公司，巴斯夫公司、先正達公司、拜耳公司等、及北卡州立大學(North Carolina State University, NCSU)作物科學系(Department of Crop Science)與基因轉殖實驗室等。

目次

一、前言.....	4
二、行程.....	5
三、研習內容.....	6
四、心得與建議.....	12
五、誌謝.....	15
六、附件.....	16

基因轉殖、非基因轉殖及有機農業共存模式之建立

壹、前言

近年基因轉殖作物(或稱基因改造作物，Genetically modified Crop)快速發展，可能對人體食品安全、有益昆蟲、及環境生態產生不良影響，引發世界各國之間貿易糾紛。各國政府對於基因轉殖作物的態度，以美國為首之美洲各國採取寬鬆之立場，歐盟多數國家、日本、及韓國則採取嚴格之立場。因此，全世界栽培基因轉殖作物 90% 以上集中於美洲大陸，主要栽培國家分別為美國、阿根廷、巴西、加拿大、巴拉圭、烏拉圭、及墨西哥等。這些國家不僅大量生產基因轉殖作物，而且將基因轉殖作物產品大量出口至未種植基因轉殖作物之國家。歐盟多數國家、日本、韓國及台灣，雖然並未生產基因轉殖作物，但因本身產業發展需要，大量進口基因轉殖作物產品。為避免不肖農民或業者不當種植，各國均制定相當嚴格法規規範。英國「基因轉殖作物供應鏈倡議小組 Supply Chain Initiative on Modified Agriculture Crops, SCIMAC」結合英國農產品供應鏈各代表性組織，SCIMAC 制定準則之範圍涵蓋農業操作之所有方向，如種子儲藏、種植方式至作物隔離距離、收穫程序、收穫後管理與紀錄等。此結果證實管理過程使用之所有準則皆與英國農業已廣泛實行之管理實務相同，且足以使基因轉殖與非基因轉殖作物並行。

基因轉殖作物對人體安全、環境生態、及美國生技公司研究方向等議題一向為台灣各界所重視，行政院農業委員會在 98 年度出國研習項目中列有研習「基因轉殖、非基因轉殖及有機農業共存模式之建立」計畫，由農業試驗所生物技術組吳明哲研究員兼組長及種苗改良繁殖場生物技術課孫永偉助理研究員等 2 人自 10 月 14 日至 25 日前往美國研習，為期共 12 天。

貳、行程

時 間	行 程	內 容
10月14日 (星期三)	啟程及抵達	由台北出發前往華盛頓特區。
10月15日 (星期四)	華盛頓特區-李奇蒙市	華盛頓特區至李奇蒙市，參訪維吉尼亞州立邦聯大學。
10月16日 (星期五)	李奇蒙市	參訪維吉尼亞州立邦聯大學。
10月17日 (星期六)	李奇蒙市	資料整理。
10月18日 (星期日)	李奇蒙市	資料整理。
10月19日 (星期一)	李奇蒙市-洛利市	李奇蒙市至洛利市，參訪 BASF 公司。
10月20日 (星期二)	洛利市	參訪 BASF 公司。
10月21日 (星期三)	洛利市	參訪 Bayer 公司。
10月22日 (星期四)	洛利市	參訪 Syngenta 公司。
10月23日 (星期五)	洛利市-華盛頓特區	參訪北卡州立大學。
10月24日 (星期六)	返程	華盛頓特區-台北。
10月25日 (星期日)	返程	華盛頓特區-台北。

參、研習內容

全球基因轉殖作物栽培面積已達 1 億 1 千萬公頃，約占該類農作物總栽種面積 2 億 6 千萬公頃之 42%，每年仍大幅成長，以美國為最大生產國，其次為阿根廷、加拿大及中國，分別佔 66、23、6 及 4%。主要基因轉殖作物為大豆、玉米、棉花及油菜(Canola)，主要轉殖基因種類為抗殺草劑、抗蟲、同時抗殺草劑及抗蟲。主要基因轉殖作物生產公司為孟山都(Monsanto)、先正達(Syngenta)、巴斯夫(BASF)、拜耳(Bayer)及杜邦(DuPont)等。各農業生技公司主要研發目標為，防止雜草、昆蟲、及菌類對作物危害、改進作物品質等，故研發產品以殺草劑、殺蟲劑、殺菌劑、基因轉殖與非基因轉殖作物種子等為大宗。

本次赴美研習內容包含有關基因轉殖作物研究之基因選殖、基因轉殖技術、基因轉殖作物成分分析、基因轉殖作物風險評估與法規、基因轉殖與非基因轉殖作物共存制度、分子標誌輔助育種技術等。參訪機構與地區分別為位於維吉尼亞州首府李奇蒙市(Richmond)之維吉尼亞州立邦聯大學(Virginia Commonwealth University, VCU)生物系、北卡羅萊納州首府洛利市(Raleigh)著名的科技「三角研究園區」(Research Triangle Park)之生技公司，巴斯夫公司、先正達公司、拜耳公司等、及北卡州立大學(North Carolina State University, NCSU)作物科學系(Department of Crop Science)與基因轉殖實驗室等。國際生技公司對於商業化基因轉殖作物種子之研發，包含訂定產品目標(由不同領域專家評估成本效益、相關專利與侵權法規)、尋找基因、基因構築、基因轉殖、溫室及田間隔離試驗(遺傳穩定性、生物安全性及食品安全性評估)、品系選拔、品種開發、田間生產、產品上市、產品上市後管理等(如圖一)已制定一套完整流程。一般生技公司在訂定產品目標時即已考量生物安全因素，美國政府相關管理機關則介入品系選拔至產品上市後管理。綜合此流程，以下將本次行程研習內容分為五部分說明：

一、基因開發與構築

目前巴斯夫、拜耳及先正達等生技種子公司以生產高利潤作物為主，如具有抗蟲或抗殺草劑之基因轉殖玉米、大豆、油菜及棉花等為首，由於生技種子公司成功開發一種性狀(single event)基因轉殖作物約需數年至 15 年，所需費用 5 千萬至 1 億美元，因此僅能局限於大宗作物種類，對於諸多園藝作物在基因轉殖品系之開發意願低落。生技種子公司對於基因轉殖作物之開發，均先請法律專家評估相關專利與法規，育成基因轉殖作物首要工作為特定基因篩選與載體構築，各大型種子公司均有一套高效能篩選基因方法，基因晶片為目前較常用非常有效率之篩選基因工具。每 6~12 個月可篩選出 5,000~10,000 個基因，即使基因間呈現一個核苷酸差異性亦可鑑定。目前國際生技公司為避免環境或人體安全衍生問題，已逐漸淘汰使用具有抗抗生素基因作為篩選標記(Select markers)，如先正達公司構築之基因載體，可不使用抗殺草劑或抗抗生素

基因，改為該公司研發之 *PMI* 基因(Phosphomannose isomerase)作為篩選標記，亦即只有轉植株能夠存活於不含糖只含甘露糖(mannose，轉化成碳水化合物來源)之培養基中。因此，進行基因轉殖作物檢測前置作業，瞭解轉基因構築載體之啟動子(Promoter)、終止子(Terminator)、外源基因、及篩選標記極為重要。

近年來，分子遺傳學之進展神速，隨著人類及阿拉伯芥基因體解序工作之完成，已有愈來愈多物種之基因體被解序出來，也促進功能性基因體之研究以及新基因發現與基因功能瞭解。巴斯夫公司視植物生物技術為 21 世紀的關鍵技術，積極投入相關研究，其植物科學技術平台團隊(BASF Plant Science)與全球許多學術機構及生技公司進行策略研發合作，同時透過集團建構之技術網絡系統，致力整合應用內部與外部關鍵知識的最大利益化；近年併購 Metanomic 公司獲得作物基因體學的關鍵技術，其技術平台乃應用研究植物生理的代謝功能與代謝化合物變化來驗證特定農作物基因的功能。在 2006~2008 年間，巴斯夫公司預計投資超過 4 億歐元在植物生物技術領域，該公司之子公司—Crop Design 與世界上許多國家簽有合作開發新基因之協議書，我國中央研究院亦與該公司簽訂研發水稻 T-DNA 合作協議書，該項計畫所發現之新基因由該公司技轉並申請專利權。

二、基因轉殖平台

各家生技種子公司皆使用其自身專利之基因及基因轉殖方法，以避免未來商業化基因轉殖產品衍生侵權問題，如先正達公司利用自家公司專利農桿菌法進行基因轉殖工作。目前基因轉殖技術主要仍為農桿菌法，但也有部份學者主張可以利用基因槍法或電穿孔法將外外源基因插入作物的染色體上。

雖然外源基因插入作物染色體位置為隨機性，但生技公司執行外源基因插入作物染色體 DNA 有其一定位置，如最佳插入位置為重複序列區域且為單拷貝基因(Single copy)，且不可插入跳躍子(Transposons)、開放編碼框架(ORFs)、啟動子(Promoter)，如此產生之轉殖植物將有較佳之遺傳穩定性、避免改變優良品種之性狀、較易評估相關法規規範、對生物及環境安全性衝擊亦較低。故生技公司研發人員必須確認外源基因進入第幾條染色體及其相關位置，使用貴重儀器有共軛焦顯微鏡(Confocal Microscope)、即時聚合酵素連鎖反應儀(Real Time PCR)、及自動定序儀(Autosequencer)等，儀器設備費遠超過新台幣千萬元，非一般實驗室所能負擔，故本國若執行完整基因轉殖研究，必須整合相關領域之技術與人才進行分工合作模式。

維吉尼亞州立邦聯大學(Virginia Commonwealth University；VCU)生物系吳方盛(Fang-Sheng Wu)副教授(圖二)主要專長為遺傳工程，目前從事將抗大腸癌基因轉殖至香菇(Shitake mushroom)或蠔菇(Oyster mushroom)(圖三、圖四)、電穿孔基因轉殖技術、中草藥毛狀根生產二次代謝物、利

用綠藻生產生質柴油、組織培養等相關研究，其研發方向頗能符合目前農委會正積極推動之分子農場技術平台研發。本次參訪維吉尼亞州立邦聯大學生物系，在吳方盛副教授之引導下，亦參觀該系一些儀器設備，如 DNA sequencer、純水製造、生物反應器等設備(圖五、圖六、圖七)。吳方盛副教授出生於台灣，每年均會回台灣探望親人，也非常樂意指導從事生物技術研究之後進，未來或許能以計畫合作或邀請國外專家方式邀請吳方盛副教授回國指導，提升國內研究水準。

本次行程亦安排與北卡州立大學植物基因轉殖實驗室(Plant Transformation Laboratory) (圖八)負責人 Dr. George Allen 見面。Dr. Allen 實驗室主要負責基因轉殖植物基礎及應用研究，除可接受委託進行基因轉殖及轉殖植株組織培養繁殖工作外，亦可接受委託訓練人員有關植物基因轉殖與再生、完整轉基因與正常表達基因轉殖個體之篩選、轉基因分子結構鑑定等技術，該實驗室亦積極研發新的植物基因轉殖技術，期望能使該實驗室保有最先進的植物生物技術，可提供無智財權限制的基因轉殖技術予合作對象。這個運作模式似可提供給國內有意成立植物基因轉殖技術平台的單位參考。

三、植物成分分析與品管(Plant Analysis and Quality Control)

美國各大生技公司在基因轉殖植物的研發過程中，目標基因尚無法依照人為意思插入受體植物特定染色體的特定位置上，目前僅能以逢機方式將目標基因插入染色體的不特定位置上，如此目標基因常會插到其他有功能性的基因上，造成該基因的功能喪失；有時要插入的目標基因在轉殖過程中遺失某些片段，因此不具完整性；有時要插入的目標基因因不明原因插入後並沒有表達；有時亦會發生其他基因的污染。因此，生技公司必須先製造數千個 events，這些為數眾多的 events 必須在實驗室中進行基因型鑑定與在溫室或隔離田間進行外表型鑑定。一般生技公司所要的 events 為僅含一套目標基因，轉入基因必須具完整性，插入在適當的位置上，當然其 flanking sequence 必須清楚。

確定所要的 events 沒有問題後，才能送到 supply chain 在溫室中大量繁殖並取樣檢測，取樣檢測通常用大量種子 (bulk seeds) 取樣方式，不用單一 (single seed) 種子取樣方式，植物成分分析項目包括 DNA 分析、蛋白質分析、基因表達分析等。經由嚴格執行之植物成分分析與品管後，往往原先之數千個 events 僅剩下一個或兩個 events，各大生技公司均認為在基因轉殖植物研發過程中，這一項物成分分析與品管最為重要，因為萬一商品化之 event 一旦有暇疵，賠償問題很難處理。

轉基因成功之個體稱為 T0 代，一般 T0 代基因型為異質結合型(Aa, Heterozygous)。T0 代植株自交產生之後代稱為 T1 代，基因分離率為 AA : Aa : aa = 1 : 2 : 1，淘汰基因型為 Aa 及 aa 之植株。以基因型 AA 之 T1 植株進行自交，產生之後代均為同質結合型(Homozygous)T2 代。T2 代後植株進行主成分分析及田間試驗。實驗室必須對 T0、T1 和 T2 代

單株進行 Real Time PCR、RT-PCR、生物晶片、2D 電泳、及 LC/MS 等分析，以確認關鍵主成分變化。

四、生物安全風險評估與法規

美國對於基因轉殖作物之風險評估有二類，食品安全性評估及對環境衝擊之評估。風險評估分四階段進行，基本資料評估(轉殖基因之特性及表現)、實驗室內基因轉殖作物及其產品之安全性評估、溫室內觀察基因轉殖作物對模擬自然環境之影響、基因轉殖作物種植於田間試驗觀察等。生技公司遞交政府主管機關之資料必須包括基因與蛋白質安全性、食品與飼料安全性、植物安全性之評估等(如圖九)。基因與蛋白質安全性資料包括轉殖基因之來源、特點及功能；轉殖基因產物之功能及特性；基因產物是否引發過敏反應或毒素相關資訊。食品與飼料安全性資料包括成份近似性分析、主要養份及妨礙養份吸收物質分析、動物試驗評估等。植物安全性資料必須考量基因轉殖作物演變成有害植物之可能性、基因轉殖作物基因流佈(Gene flow)至栽培種或近緣野生種可能性、對自然生物族群的影響等，基因轉殖作物商業化前之環境影響評估(如圖十)包括，植物性狀(農藝性狀、基因流佈、種子休眠與發芽、花粉活力與形態)；無脊椎動物及有益昆蟲試驗(蚯蚓、跳蟲、水蚤、瓢蟲、蜜蜂、寄生蜂、甲蟲、草蛉、帝王蝶)；動物試驗需進行魚類(鱒魚、鯰魚)、鳥類(鸚鵡)、及哺乳類(老鼠)等相關試驗。美國密西根州立大學國際農業中心每年於暑假期間開設有關於基因轉殖植物生物安全訓練課程。訓練課程內容有，介紹基因轉殖作物發展現況、基因轉殖作物實驗室與田間試驗過程、基因轉殖作物對環境影響與風險評估、生物安全法規、基因轉殖作物風險溝通與公眾參與等。

(一) 基因轉殖作物能否商業化生產之管理機關

第一代基因轉殖作物(抗殺草劑和抗蟲)已自 1995 年開始在美國商業化生產，農民可接受這兩種作物最大的理由為：(1) 這些基因轉殖作物可以簡化農業生產系統中雜草和害蟲的管理，(2) 種植這些基因轉殖作物的經濟效益甚高。

在美國，決定基因轉殖作物能否商業化生產之管理單位為美國農業部(United States Department of Agriculture, USDA)和美國環保署(Environmental Protection Agency, EPA)。美國農業部監測和管理農業用途的生物技術，該部負責檢驗田間試驗的資料，來決定是否基因轉殖作物會成為有害植物或對環境造成危害，基因轉殖抗殺草劑作物之管理在此範圍，例如抗殺草劑 glyphosate 大豆、玉米、油菜等。美國農業部中最重要的負責單位為動植物防檢局(Animal and Plant Health Inspection Agency)，該局管理基因轉殖作物經由允許和告知程序的運搬、進口和田間試驗。

美國環保署的任務在於保護環境的品質和健康，在保護環境免於遭受生技產品危害的立場上，該署聚焦於併入植物體的保護物質(Plant

Incorproated Protectants, PIPs) 的管理。抗蟲基因轉殖作物含有併入植物體的保護物質，會產生殺蟲物質，這種併入植物體的保護物質可成為遺傳物質，所產生的殺蟲物質是新蛋白質，環保署管理新蛋白質和其遺傳物質，但不包括作物本身。

(二) 基因轉殖作物之管理

基因轉殖作物在進入商業化生產前，通常需經數年嚴格試驗。在美國，管理過程有九個步驟，通常需要 7 至 10 年時間來完成，美國農業部動植物防檢局負責任何核准基因轉殖作物的安全性，並保證不會對環境造成任何負面影響，環保署則負責含有併入植物體保護物質的基因轉殖作物的安全性評估，該署評估新蛋白質在植物體中產生的位置與如何產生，及其是否對人類和其他生物體是否有毒性。

併入植物體保護物質通常指的是抗蟲基因轉殖作物，美國環保署在這種作物及其產品上市前會評估以下風險：(1) 對人類的風險，(2) 對非目標生物及環境的風險，(3) 基因流佈的可能性，(4) 抗蟲管理計畫。該署要求進行以下試驗以鑑定是否對人類或環境有任何風險：

(1) 鑑定新遺傳物質和所有新蛋白質，(2) 檢驗所有新蛋白質對哺乳動物的毒理性，(3) 比較新蛋白質和已知毒物與過敏原，(4) 進行鳥類、蚯蚓、蜜蜂、瓢蟲、草蜻蛉等的毒理試驗，(5) 進行和目標害蟲相關昆蟲的毒理試驗，(6) 新蛋白質在環境中分解所需的時間。

生技公司發展一個基因轉殖作物需要依據美國政府中一個或一個以上主管機關的規定，研擬生物安全評估計畫，決定那些必要試驗，來保證最終產品的安全性。生技公司必須將進行中的試驗資料遞交適當主管機關，美國農業部為動植物防檢局審查生技公司遞交資料，並決定這個基因轉殖作物是否會經由和本地種雜交或擊敗本地種等方式對環境造成負面衝擊，該局也須確認基因轉殖作物是否會對野生生物造成負面影響或是演變為超級雜草。

超級雜草會以下列兩種方式發生：(1) 基因轉殖作物的花粉授粉到雜草性近緣種，這個近緣種變成具有抗殺草劑能力，(2) 抗殺草劑作物脫離栽培體系演變成為雜草。為此，環保署制定一個管理架構，要求執行以上適當試驗，來確保基因轉殖作物對環境而言是安全的，該署尚未核准過在美國有雜草性近緣種的基因轉殖作物，舉例而言，棉花和玉米在美國並無雜草性近緣種。對於擁有雜草性近緣種的作物，超級雜草的關切並非新問題，多年來作物育種人員已經育出許多具優良性狀的品種，且當它們栽培附近有雜草性近緣種時，它們的花粉早以授粉到近緣種上，並已將它們的基因轉移到近緣種上，舉例而言，向日葵栽培種確已和野生種在自然狀態下雜交。

抗蟲基因轉殖作物是否會導致害蟲演化成為對該植物具抗性是一個令人擔憂的問題。環保署要求種植抗蟲基因轉殖作物的農民必須在周遭種植非基因轉殖作物當做害蟲的避難所 (refuges)，理論上，這將允許

不具抗性害蟲持續繁殖，並與抗蟲基因轉殖作物導致具抗性的害蟲交配，不具抗性的顯性基因將傳至下一代，維持對抗蟲基因轉殖作物不具抗性族群的繁衍。此外，亦有相關議題環繞在抗蟲基因轉殖作物是否會危害有益昆蟲，但目前為止尚無對有益昆蟲危害的確實證據。傳統噴灑殺蟲劑消滅害蟲的方法也消滅了許多有益昆蟲，這種方法並不像抗蟲基因轉殖作物那樣具有消滅特定害蟲的專一性。

(三) 抗殺草劑基因轉殖油菜

目前抗殺草劑基因轉殖作物已有苜蓿 (alfalfa)，油菜 (canola)，玉米 (corn)，棉花 (cotton)，亞麻 (flax)，稻米 (rice)，大豆 (soybean)，向日葵 (sun flower)，甜菜 (sugar beet)，菸草 (tobacco) 和小麥 (wheat) 等，主要之抗殺草劑基因為 glyphosate, glyfosinate, ALS inhibitors (imidazolinones and sulfonyl ureas)，sethoxydim，全球抗殺草劑基因轉殖作物面積已達 8 千萬公頃，為基因轉殖性狀最大宗。

已有甚多生物安全評估試驗證實抗殺草劑基因轉殖油菜 (*Brassica rapus* L.) 在田間會發生基因流佈且產生雜交種的問題，這些試驗包括在同一地區生存具有雜交親合性的近緣種，開花期的一致性，授精成功率以及有活性的雜交後代。在鄰近田區的非基因轉殖油菜或含不同抗殺草劑基因的基因轉殖油菜有可能獲得新的抗殺草劑基因，並產生含單個或多個抗殺草劑基因的個體。油菜採收時種子遺失和休眠等特性造成種子庫中抗殺草劑性狀的維持及下一期作中自生苗的可能發生。除 *Brassica rapa* L. 以外，油菜和其他野生近緣種之基因流佈風險相當低，轉基因導入 *Brassica rapa* 族群後並未造成多大環境適應問題。抗殺草劑油菜基因流佈對農業生態系統之影響，包括種子庫的污染，較複雜與昂貴的控制策略以及耕作系統的限制性。

轉殖抗殺草劑基因之主要目的為使目標作物擁有抗殺草劑之能力，因此，田間噴灑殺草劑可以節省中耕除草所需之龐大費用，廣為種植基因轉殖作物農民之歡迎。但由於抗殺草劑基因之流佈，不僅流佈到栽培種，亦流佈到近緣種、雜草種，致使雜草亦帶有抗殺草劑基因，造成噴灑殺草劑無法防除雜草之問題。雖然可以用輪作不同抗殺草劑基因作物之策略來防除雜草，但此種策略並非長久之計；另有部份生技公司研擬進行新興抗殺草劑基因之研發，但此種策略顯然亦非永續發展之解決方式。

(四) 基因轉殖作物與非基因轉殖作物之共存

油菜 (*Canola*, *Brassica napus* L.) 為最早出現的基因轉殖作物之一，目前已在加拿大和澳洲大面積商業化栽培。由於油菜為異花授粉作物，天然雜交率高達 30%，也易與其他芸苔屬作物雜交，因此，基因轉殖油菜的生態風險已引起各國高度重視。基因轉殖油菜主要須通過與其野生近

緣種的花粉交換和與非基因轉殖油菜的花粉交換兩種方式進行花粉飄散研究。由於基因流佈(Gene flow)在油菜田間確實存在，因此在種植基因轉殖油菜的過程中必須考慮其間隔距離，相關基因轉殖與非基因轉殖作物間隔距離遠近，各國往往受民眾接受度不同而有不同標準。

在基因轉殖作物與非基因轉殖作物之共存議題上比較美國和歐盟之做法，當然有完全不同的立場。歐盟各國對於基因轉殖作物的種植仍處於相當排斥的立場，因此大多積極研擬共存 (coexistence) 與追蹤 (traceability) 的方法，共存制度建立的先決條件為基因轉殖作物種植者必須負起基因汙染鄰近農田的賠償責任，追蹤方法的建立則必須建立具有公信力且實用可行的基因檢測方法。反觀美國的環境，由於種植基因轉殖大豆或玉米的農田已高達 80% 以上，多數意見認為基因汙染的責任歸屬種植非種植基因轉殖大豆或玉米的農民，當然沒有賠償的問題，也不需要這些基因轉殖作物上大費周張地研究共存與追蹤的方法。

五、分子標誌輔助育種

分子標誌輔助育種技術能夠偵測植物的基因組並在短時間內辨識具有最佳性狀之優秀品種，方便研究人員選種。此技術可為研究人員節省了不少時間與育種費用，育種者在創造新品種時，以往需要十年時間，現在只需約四年時間。孟山都和巴斯夫公司研究人員利用分子標誌技術由某種土壤細菌中篩選出一個基因能使玉米對嚴重乾旱產生耐性，並能使玉米在水分供應不足的情況下保持產量穩定性。這種名為 *cspB* 的基因來自自然存在的枯草桿菌(*Bacillus subtilis*)，此兩家公司將這一基因用於第一代耐旱玉米產品並計畫於 2012 年發佈，並須經由主管單位審核。

基因型鑑定是用於偵測個體間存在的 DNA 序列差異，並透過雜交分離族群外表型相關性分析用以找出性狀相關之分子標誌，與育種計畫配合稱分子標誌輔助育種選拔 (marker-assisted selection)。目前常用的基因型鑑定的系統為 SSR (simple sequence repeat) 和 SNP (single nucleotide polymorphism) 兩種；其中 SNP 的 DNA 序列差異僅一個核鹼基，平均每 100 到 300 個核鹼基對就會出現一個 SNP，且大部分的 SNP 只有兩種型態，並廣泛分布於全基因體，數目最多且分佈廣闊、型態變化簡單的特性。

微衛星技術(microsatellite)又稱簡單序列重複(simple sequence repeat, SSR)，或稱短串聯重複(short tandem repeat, STR)。這是一類由幾個核鹼基(一般 2~4 個) 為重複單位組成的長達幾十個核鹼基的串聯重複序列，這些串聯重複序列由於重複次數的不同而造成序列長度的多型性。微衛星既可在高解析度的瓊脂糖凝膠(Agarose gel)上分析，也可在聚丙烯醯胺測序膠(Polyacrylamide gel ; PAGE)上進行分析，同時利用銀染技術取代傳統的放射性標記提供了一種快速、敏感、低成本的顯影手段，使微衛星的應用更加簡單快捷。水稻基因組蘊藏著及其豐富的 SSR，先正達公司的測序結果發現在粳稻基因組中存在約 2 萬個以 2 個、3 個、4 個

核苷酸為基序的 SSR。巴斯夫公司最近研發出非基因轉殖玉米，能夠對抗寄生性雜草獨腳金(Striga)，也正在努力培育一種高產小麥，能夠抵抗真菌與乾旱的侵襲。

北卡州立大學作物科學系 Dr. Jim Holland 專長為基因定位(QTL mapping)，主要從事玉米、小麥等作物農藝性狀(產量、株高、開花時間、及抗病性等)之基因型鑑定、利用簡單序列重複(simple sequence repeat, SSR)或單一核苷酸多型性(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)技術進行基因座定位、分子標誌輔助育種技術等研究。北卡州立大學為美國農業部自 2002 年起建立全國小麥、大麥、燕麥分子標誌輔助育種計畫四個核心實驗室之一(如圖十一)，另三個為華盛頓州立大學、北達科他州立大學、堪薩斯州立大學，這四個核心實驗室因應周遭公私立育種單位之需求，進行小麥、大麥、燕麥等作物農藝性狀(產量、株高、開花時間、及抗病性等)之基因型鑑定，找出與重要性狀密切關連之分子標誌，提供給各育種單位，以提高育種之效率。本次研習參觀之北卡州立大學分子標誌核心實驗室擁有不少甚為先進之分生儀器設備(如圖十二、圖十三、圖十四、圖十五)，經費來源大多為美國農業部。

NCSU Dr. Holland 實驗室採用兩種系統進行 SNP 分析一是 Roche LightCycler real-time PCR 系統(如圖十六)，是根據 melting curve 的變化確認 SNP 基因型；另一則是 KASPar SNP Genotyping System(如圖十七)，根據 allelic-specific PCR 原理進行 SNP 基因型鑑定。

Roche LightCycler 系統在點突變的序列位置設計專一性探針，並利用螢光物質標定，當探針未結合狀態螢光受到抑制物質消滅，處於結合狀態時則發出螢光。將探針與帶測 DNA 樣品混合進行加熱，隨著溫度提昇，有點突變結合較不緊密的探針會先離開，在螢光訊號對上溫度的曲線先衰減，而異質結合個體的曲線落在正常與突變體之間；經過軟體換算藍色代表正常個體、紅色代表突變個體以及綠色是異質結合個體。

KASPar SNP Genotyping System 是操作較為簡便，且成本低的 SNP 分析系統，針對目標序列兩種不同的 SNP 基因型設計引子，並以不同螢光物質標定 (FAM 和 VIC)，同時加上螢光物質 ROS 作內部對照，當待測 DNA 樣品與螢光標定引子混合反應後，僅有正確的結合獲得螢光反應，異質結合個體則發出混合螢光，透過 ROS 物質作強度內部校正，可獲得清晰結果。

肆、心得與建議

本次研習有許多收穫及建議，在此提出生技公司研發效率及未來研究方向資訊，謹供相關單位參考。

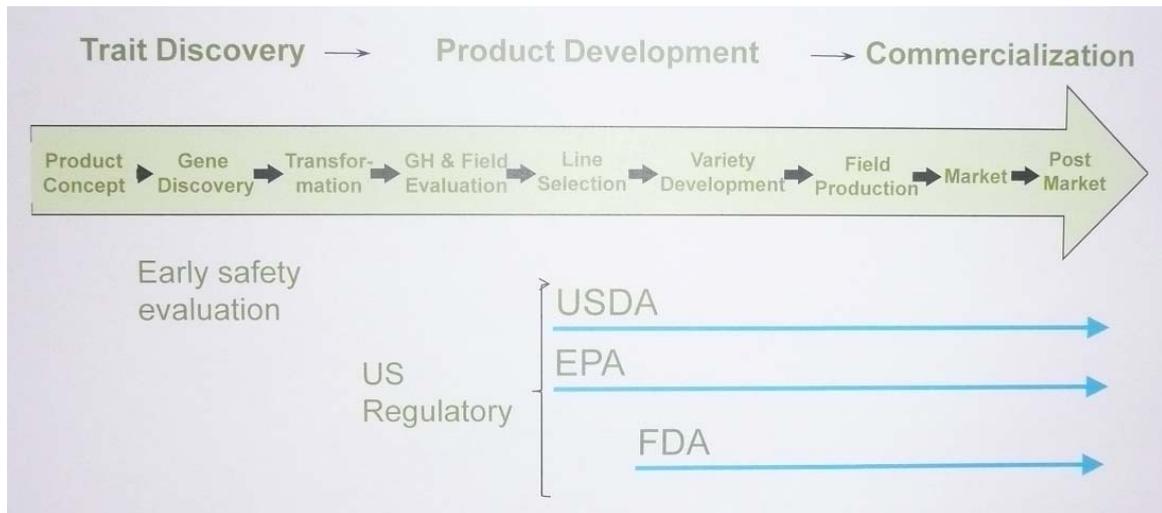
- 一、國際大型生技公司研發基因轉殖作物，投入之人力與經費非常驚人。以先正達公司為例，約 24,000 名員工中有 4,000 人從事研究開發，研發經費超過 9 億美元，約占總經費 10%。以如此高的研發經費與人員素質投入特定研究項目，為一般小規模研究之學術或產業界難與其匹敵。生技種子公司開發每一個基因轉殖作物商業化品種約需 5 千萬至 1 億美元，我國各研究機關研發之各項基因轉殖作物是否具備國際競爭力，仍需審慎評估。
- 二、生技公司除大量開發生產基因轉殖作物種子，亦積極研發利用誘變育種法育成抗病或抗殺草劑新品種，如 Clearfield 水稻(路易斯安那州立大學稻米研究中心在 1990 年代晚期育出耐 Newpath 除草劑的稻米品種；當施用 Newpath 除去紅米雜草時，Clearfield 水稻不會受到傷害，已授權給巴斯夫公司)即為非常成功之商業品種。巴斯夫公司除利用誘變育種法育成抗殺草劑水稻外，也育成抗殺草劑之玉米、小麥、及大豆等品種，廣受各國農民喜愛。由此可知，利用誘變育種法培育之新品種獲得之商業利潤未必低於基因轉殖作物，卻更易被世界各國消費者接受。本次參訪大型生技公司均表示，將逐漸投入水稻品種相關研究，希望拓展亞洲以稻米為主食國家之市場，此訊息可提供國內學研單位參考。
- 三、雖然各大型生技公司彼此均為競爭對手，且均有完整設備與高素質研發人力，但為提升研發效能及縮短育種年限，彼此間亦經常為特殊目的形成夥伴關係。如孟山都與巴斯夫公司合作開發汰克草殺草劑 (Dicamba)之相關應用研究，未來雙方將一同研發 Dicamba 類的新型殺草劑，可進一步與作物抗殺草劑之性狀結合，以開發出新一代可同時抗 Roundup 及 Dicamba 類殺草劑之作物，提升農業生產效率。巴斯夫公司目前在 Dicamba 類殺草劑產品中為全球最大的供應者，掌握許多關鍵技術，而孟山都公司則具有強大的作物品種開發能力，二者的合作將可於短時間內研發出新型抗殺草劑基因轉殖作物。
- 四、「生質能源」為生技公司積極布局之研究新方向，孟山都公司於 2008 年宣布和孟德爾生技公司(Mendel Biotechnology)共同開發可用於製造生質酒精及生質柴油的禾本科植物，孟山都將派遣其作物試驗及育種的專家至孟德爾的生質能源部門(BioEnergy Seeds & Feedstocks unit)進行研發合作。二家公司將鎖定多年生禾本科植物，分析其生產纖維素酒精的潛力，希望能找出合適的品種以取代玉米在生質酒精的角色，舒緩發展生質酒精對飼料及食品領域所造成的嚴重排擠效應。此外耐乾旱、寒冷、及鹽分等逆境為未來重要育種目標，瞭解上述生技公司發展現況與展望資訊，希望國內相關決策與研究單位及早因應可能衍生

之法規及技術問題。

伍、誌謝

本次出國研習人員吳明哲組長及孫永偉助理研究員之出國旅費分別來自農業委員會（98 農科-4.1.1-農 C1(9) ，國科會審議編號：9821010106-06040101 C1）及（98 農科-4.1.1-種-X2，國科會審議編號：9821010106-06040101X2）計畫，謹向農業委員會致謝。

陸、附件



圖一、生技種子公司開發商業基因轉殖種子之流程。



圖二、維吉尼亞州立邦聯大學生物系吳方盛副教授。



圖三、吳方盛副教授展示將抗大腸癌基因轉移至香菇與蠔菇之研究。



圖四、吳方盛副教授展示將抗大腸癌基因轉移至香菇與蠔菇之研究。



圖五、維吉尼亞州立邦聯大學生物系 DNA sequencer 設備。



圖六、維吉尼亞州立邦聯大學生物系純水製造設備。



圖七、維吉尼亞州立邦聯大學生物系生物反應器設備。



圖八、北卡州立大學植物基因轉殖實驗室(Plant Transformation Laboratory)。

Regulatory Assessment of Single Event Biotechnology Products



- > Gene(s)
 - Source(s)
 - Molecular characterization
 - Insert/copy number/gene integrity
- > Protein(s)
 - History of safe use and consumption
 - Function/specificity/mode-of-action
 - Expression Levels
 - Toxicology/Allergenicity
- > Food/Feed Safety
 - Proximate analysis
 - Key nutrients and anti nutrients
 - Animal performance assessment

6 18 August 2009

6 syngenta

圖九、生技公司遞交政府主管機關之資料必須包括基因與蛋白質安全性、食品與飼料安全性、植物安全性之評估等。

Regulatory Assessment of Single Event Biotechnology Products - Environment

- **Plant pest potential**
 - Agronomic assessment
 - Gene flow
 - Seed dormancy and germination
 - Pollen Viability and Morphology
- **Persistent in the environment**
 - Soil degradation study
- **Impact on soil invertebrates**
 - Earthworms
 - Springtails
- **Impact on aquatic invertebrates**
 - Water fleas
- **Impact on beneficial insects**
 - Ladybugs, honeybees, parasitic wasps, beetles, lacewings and monarch butterfly
- **Impact on fish**
 - Trout
 - Catfish
- **Impact on birds**
 - Quail
- **Impact on mammals**
 - Mice
- **Insect resistance management**

7 18 August 2009

7 syngenta

圖十、基因轉殖作物商業化前之環境影響評估。



圖十一、北卡州立大學為美國農業部全國小麥、大麥、燕麥分子標誌輔助育種計畫四個核心實驗室之一。



圖十二、北卡州立大學 Roche LightCycler SNP 分析系統。



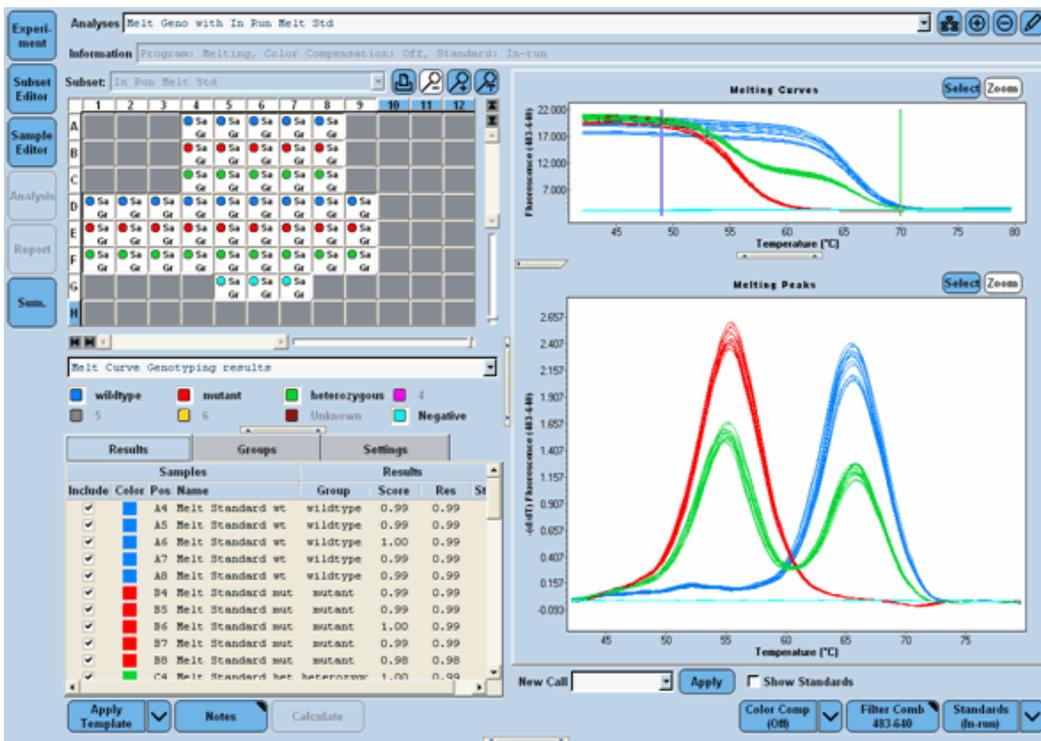
圖十三、北卡州立大學 Thermo96 自動液體處理系統。



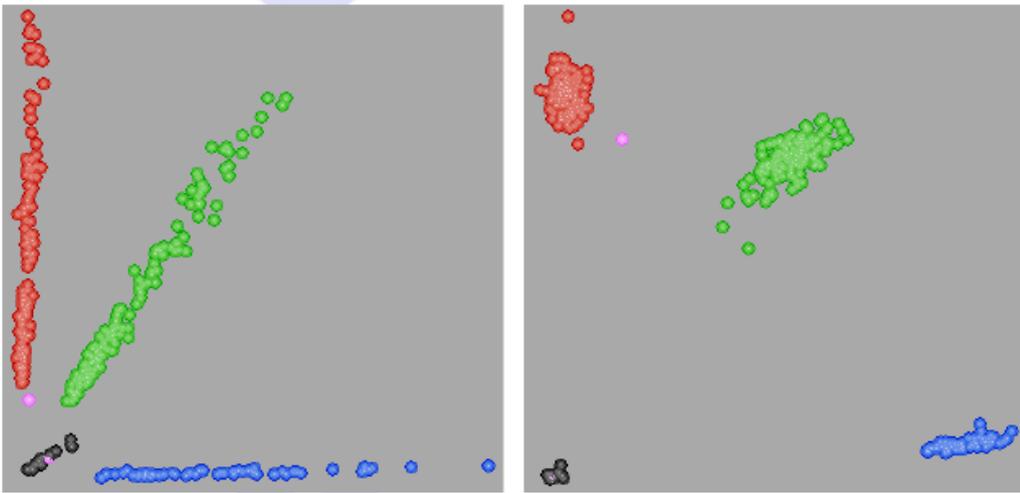
圖十四、北卡州立大學 ABI 自動核酸定序儀。



圖十五、北卡州立大學 Thermo 2x2 自動液體處理系統。



圖十六. Roche LightCycler SNP 分析系統，藍色代表正常個體、紅色代表突變個體以及綠色是異質結合個體。



圖十七. KASPar SNP Genotyping 分析結果，每一個紅色和藍色點代表不同 SNP 基因型個體，綠色點是異質結合個體，灰色是未加入樣品的空白對照，左邊圖未經過 ROS 內部校正，右圖是經過強度校正後結果。