

## 基改動物的現況與前景

鄭登貴 教授  
吳信志 助理教授

國立台灣大學畜產學系  
台灣動物科技研究所

### 摘要

過去三十年來，由於國內外分子生物學、遺傳工程、基因轉殖及生殖技術等之快速精進，諸多基因改造生物（genetically modified organisms; GMO）包括基改動物、植物及微生物等，乃自以往純基礎研究階段漸次邁入實際應用之境界。目前有關基改動物，諸如：基改昆蟲與基改兩棲類、水生動物乃至哺乳動物等之產製，不僅其技術已被陸續例行化，且分別有逐漸被實際應用於農業及生物醫學領域之趨勢，預期將來可為全球之生物科技產業，帶來極大商機。基改動、植物或微生物，雖然分別均可提供做為生產重組蛋白質（recombinant proteins）之使用，惟就結構較為複雜之蛋白質而言，包括其量產、萃取及純化，與涉及轉譯後修飾有關之蛋白質活性等，皆以基改動物之生產系統者最具效率；此一事實，尤以利用「基改家畜」當做「醫藥工廠」者為然。

應用體細胞核移植方法進行基因改造動物的產製技術，未來在治療複製、異種器官移植及再生醫學等領域，均甚具應用潛力。惟鑑於基改動物體及其相關衍生產品，在上市之前尚有諸多安全性疑慮及是否對自然環境生態造成衝擊等問題亟待評估，均係最被社會大眾關心之重要議題，因此各國政府在兼顧產業發展及產品安全問題，彼此間如何取得平衡並確立妥適之法律規範；此等議題刻正嚴厲考驗著各國執政當局及其專家學者們之智慧。台灣之基改動物研究已進入應用之階段，如何將具體成果進一步產業化，直接影響整體生技產業的進展，產、官、學界短期內迫切需要定出一套適用於台灣之安全性評估標準及管理辦法，以促進生技產業之發展。

## 正文

### 一、前言

生物技術自 1982 年 8 月即被行政院列為八大重點發展科技之一，在世人目光凝聚及各國政府全力推動之下，生物技術成為邁向二十一世紀全球重點發展科技；在建設台灣成為全方位"科技島"之目標前提下，隨著高科技電子產業之持續成長，繼電子產業後，擬定下一波具發展潛力之高科技產業方向，成為執政者振興經濟之主要施政方針。過去 30 年全球遺傳工程及基因轉殖技術之快速進展，促使生產重組醫藥蛋白之以基因轉殖生物系統由細菌、酵母菌、真菌、基因轉殖植物發展至哺乳動物細胞及基因轉殖動物等生物工廠，就結構較複雜蛋白質之量產、可萃取性及轉譯後修飾作用有關之活性評估而言，基因轉殖動物生產系統均被認為係最有效率者，一般認為在商業化後之生產成本估計及未來之市場競爭力較佔優勢，尤其以基因轉殖家畜當醫藥工廠最受青睞。另以基因轉殖植物及昆蟲量產重組蛋白亦頗具競爭力；在縮短上市時間、生物安全、先期投資成本及基因改造生物之考量，以細菌或哺乳動物細胞量產重組蛋白之系統亦有其優點。迄今，雖無任何基因轉殖動物量產之醫藥蛋白質被核准上市，然以基因轉殖家畜量產仍為全球發展之主流。受加入世界貿易組織之影響，全球經濟體系傾向自由競爭市場趨勢，勝負之關鍵在於產品研發過程及生產流程之專利佈局及行銷網，重組醫藥蛋白市場需求仍陸續成長中，西元 2000 年全球製藥產業市場達 3,540 億美元，至 2005 年預估可成長至 5,730 億美元，因此以基因轉殖生物系統量產人類所需高價位重組蛋白質之技術及商業化過程研發，仍將為全球熱門之主題。

### 二、何謂基改動物？

基因轉殖動物的定義，係指動物之基因體(genome) 經以人為方式，加入(addition)或移除(deletion)一段具有特定功能之基因序列；爰此產生之創始動

物(founder animals)，稱為轉基因動物(transgenic animals)，亦即所謂的基改動物(gene modified organisms)，簡稱 GM 動物。創始 GM 動物經由配種程序可將前述特定基因序列傳遞給子代，而子代之中擁有此一特定基因序列者，其比例乃稱為該轉殖基因在 GM 動物性腺中被傳承之效率(germ-line transmitted efficiency)。

### 三、動物基因轉殖技術的應用價值

大型動物例如：豬、牛與羊等家畜，由於其繁殖速度緩慢，世代間距甚為漫長，就家畜而言，應用傳統育種方法進行選育，歷經數十年甚或百年以上之嚴格選拔後，其能獲得之遺傳改進量，往往可因經由基因轉殖技術之巧妙運用，在短短單一世代中，達成與之相同之改進效果。雖然源自此一新興技術產生之基改動物，仍需再度依賴傳統育種方法進行後續的配種選育，始克完成建立遺傳性狀穩定之新品系，不過基因轉殖技術之興起，確實已為家畜之遺傳改進，提供一項嶄新可行之方法；家畜之許多生產性狀，諸如乳牛之產乳量、豬隻之背脂厚度及其日增重與飼料利用效率等，已知均可能經由基因轉殖技術之應用而獲得改善。此外，相同技術亦可被應用以增強禽畜對疾病之抵抗力；尤有甚者，吾人亦可經由基因轉殖技術，改變禽畜產品之組成分，並令此等基因轉殖家畜成為一個生物反應器，專門做為生產某些具有生物活性且經濟價值高昂之藥用蛋白，俾供醫療用途。茲就過去數年來世界各國研發基改動物之主要目的，分述如下：

#### 1. 禽畜生產性能、生殖性能、健康性能及其產品品質之改進：

禽畜之生產性能包括：乳、肉、蛋及羊毛之產量，與禽畜之飼料利用效率等；生殖性能包括：產蛋率、受精率、懷孕率、胚存活率、產仔數及育成率等；健康性能包括：禽畜對於疾病之易感性及抗病性或免疫力等；禽畜產品品質之改進包括：口感、風味及其營養價值等，與禽畜產品之加工特性諸如：貯存性、保水性及良好之組織結構等特性的提升。

## 2. 建立分子牧場(molecular pharming or farming)：

試圖藉由基改動物之產製技術平台，建立分子牧場專門飼養基改禽畜，並以基改禽畜作為生物反應器，進行生產人類醫療及獸醫之藥用蛋白質，諸如：疫苗、生長因子、凝血因子、抗體及生產民生、環保及國防等工業用之特定蛋白質……等。

## 3. 異種器官移植

人以外之靈長類 - 人猿、狒狒、猩猩及猴子等之各組織器官解剖構造及生理功能係最接近人類者，惟繁殖不易導致現存數量甚少，且大部分屬保育類動物；除了靈長類外，豬之解剖構造及各組織器官之生理功能在哺乳動物中係較接近人類者，且屬多胎動物 - 繁殖易、數量多，因此豬模式近十年來成為研究人類疾病之主要動物模式，包括心臟病、高血壓、動脈硬化，心肌肥厚及異種器官移植等，尤其根據統計，需求器官移植之患者，無論在國內外均逐年增加，自願捐贈器官者雖亦逐年增加，然仍有許多等待器官移植的病人。因此尋求以基因轉殖豬之器官當異種器官來源成為主要之解決途徑，台灣地區在民國 88 年，約有三萬多名器官衰竭的病人，其中有五千多位正等待器官移植。由於器官捐贈者少，因此異種器官的移植更相形重要。

由於豬器官移植給人類，會遭遇超急性、急性與慢性排斥反應，為解決豬器官移植給人類所可能發生之各種排斥現象，除了選殖與豬器官移植於人體可能造成的排斥基因外，建立基因轉殖豬之產製技術成為排斥現象解決與否之關鍵。因此，產製同時攜帶多種與人類抗排斥有關之基因，如人類壞死加速因子與第二型人類白血球表面抗原等多基因轉殖豬是解決排斥反應所必要者，但以目前之基因轉殖技術平台要將數種基因同時嵌合及表現於同一個體之基因組中，可能需配合傳統之育種選拔方法，好不容易選出之多基因轉殖豬，其配種後繁衍之後代所傳承之轉殖基因將再分離，此時體細胞複製豬平台技術之建立是將轉殖基因完整傳承於分身之不二法門。另外，人類及一些靈長類細胞表面具有 $\alpha$ -半乳糖，其合成的 $\alpha$ -半乳糖轉移酵素 ( $\alpha$ -1,3-galactosyltransferase;  $\alpha$ -GT) 基因已發生突變，人

類之消化道環境自出生後主要受微生物作用之影響，即有許多機會與 $\alpha$ -半乳糖接觸，因此在人類血中存在對抗 $\alpha$ -半乳糖之抗體，而在豬細胞表面具有 $\alpha$ -半乳糖之結構 -  $\alpha$ -Gal，此 $\alpha$ -Gal 亦會引起排斥反應。其解決之道，需用豬胚幹細胞或體細胞複製技術，將 $\alpha$ -GT 基因已剔除之豬細胞複製及育成類似人類基因突變狀態的豬，該基改豬被應用於人類之細胞、組織，甚至器官異種移植將指日可待。

#### 4.動物模式

提供生物醫學研究之極佳動物模式諸如：發育生物學與癌症、關節炎、心血管循環、肌肉萎縮、阿茲海默及巴金森氏症...等。目前有關基改動物，諸如：基改昆蟲與基改兩棲類、水生動物乃至哺乳動物等之產製，不僅其技術已被陸續例行化，且分別有逐漸被實際應用於農業及生物醫學領域之趨勢，預期將來可為全球之生物科技產業帶來極大商機。基改動、植物或微生物，雖然分別均可提供做為生產重組蛋白質(recombinant proteins)之使用，惟就結構較為複雜之蛋白質而言，包括其量產、萃取及純化，與涉及轉譯後修飾有關之蛋白質活性等，皆以基改動物之生產系統者最具效率(表 1)；此一事實，尤以利用「基改家畜」當做「醫藥工廠」者為然。

表 1、應用不同系統進行生產基因重組蛋白質之比較

	產 量	可萃取性	生物活性
細菌	++++	++	+
酵母菌	++++	+++	++
真菌	++++	+++	++
基因轉殖植物	++++	++?	++
桿狀病毒	++++	+++	+++
哺乳類細胞	+	++++	++++
基因轉殖動物	++++	++++	++++

(Houdebine, 1994)

## 四、操作方法

目前用以產生基改動物的有效方法包括:基因顯微注射法(DNA micro-injection method)、體細胞核移植法(somatic nuclear transfer method)、反轉錄病毒載體感染法(retrovirus vector infection method)、胚幹細胞媒介(embryonic stem cell mediated method)、精子媒介法 sperm mediated method)、電穿孔法(electroporation method)、微脂體轉染法(liposome transfection method)以及慢病毒載體感染法(lentiviral vector infection method)。就基改哺乳動物之產製而言,基因顯微注射法乃目前最被普遍應用之方法,此技術亦已成為研究基因在正常宿主環境中之調節作用及生理功能的重要工具;藉由此一利用策略之應用,不僅可以有效改善動物生產性能、抗病能力,賦予宿主新的性狀或生產非本身之產物 - 醫藥產品、特殊蛋白質...等,且能突破傳統數量遺傳及育種所面臨之種種限制。基因顯微注射法無論係被應用於小鼠,抑或用於較大動物之基因轉殖試驗中,所能獲得之成功率、穩定性及殖入基因在性腺中之傳承效率,除體細胞核移植法者外,均較其他方法者為佳。

## 五、發展歷程

藉由基因顯微注射技術產製轉基因動物之概念,早在 1966 年即由 Lin 氏所發表,惟應用該技術成功獲得轉基因小鼠之研究迄 1980 年首由 Gordon 等人所完成。旋後, Palmiter *et. al.* (1982)應用相同技術,將鼠(rat)之生長素基因注入小鼠(mouse)受精卵之原核內,並證明獲有生長快速且體型碩大之小鼠出生;此後之連續幾年中,每年平均有500 篇以上有關轉基因動物之報告發表。基改家畜研究之進展,係由Hammer *et. al.* (1985)首先以基因顯微注射法將MT/hGH 基因成功引入綿羊、兔子及豬之原核胚,並獲得基改綿羊及基改豬之產出,其基因轉殖效率約出生動物之1.3 及11.0%。迄目前為止,藉由基因顯微注射法所產製之基改哺乳動物,至少包括:小鼠、兔、豬、牛、綿羊及山羊等(表2);應用基因顯微注射技術將外源基因逕行注入處於原核階段之新鮮受精卵,已成功獲得帶有  $\alpha LA-hFIX$  與(或)  $\alpha LA-hFVIII$  等轉基

因小鼠、轉基因豬及(或)轉基因乳山羊之出生；由出生仔畜(仔小鼠)之分析結果證明，其基因轉殖效率平均可達 20%之譜；另外試驗結果亦證明，外源基因在第0代轉基因動物性腺中被成功傳承之百分率，一般介於 30-40%之間。

表 2、研發 GM 動物之重要里程碑

著者	年份	重大突破
Lin	1966	首度提出藉由原核基因注射技術進行產製基改小鼠之概念。
Gordon <i>et al.</i>	1980	應用原核注射技術首度獲得基改小鼠之產出。
Brinster <i>et al.</i>	1982	首度將 <i>MT-rGH</i> 融合基因藉由原核注射技術注入小鼠胚並成功獲得生長快速且體提碩大基改小鼠之出生。
Hammer <i>et al.</i>	1985	藉由原核注射技術首度獲得生長快速基改家畜之成功出生。
Gordon <i>et al.</i>	1987	證明可藉由乳腺特异性表現策略進行藥用重組蛋白之生產。
Simons <i>et al.</i>	1988	產出世界第一頭具備「生物反應器」功能之基改綿羊。
Ebert <i>et al.</i>	1991	第一頭具備「生物反應器」功能之基改乳山羊、基改豬及基改乳牛陸續問世。
Wall <i>et al.</i>	1994	源自基改動物所產生之基改產物開始進入臨床前測試。
Krimperfort <i>et al.</i>	1996	源自基改動物所產生之基改產物開始進入人體臨床測試。
Schneike <i>et al.</i>	1997	第一頭源自動物複製技術產生之基改綿羊問世。
Lee <i>et al.</i>	2003	第一頭源自動物複製技術產生之基改豬問世。
Shen <i>et al.</i>	2004	第一頭源自動物複製技術產生之基改乳牛及基改乳羊問世。

早期研究由於構築轉殖基因之啟動子(promoter)缺乏組織專一性，遂產生之基因改造動物常有諸多生理缺陷，甚或不育等現象發生。其中由重金屬蛋白(metallothionein)之啟動子所啟動之轉殖基因，諸如：rGH，hGH及bGH等之表現者，其產生之基改動物除有罹患胃潰瘍(30%)、關節炎、關節退化(超

過90%)、心血管循環疾病、心肌肥厚症、皮膚角化症、肺炎、腎病症候群及高血糖(糖尿病)等不良之副作用外，並可能使基改動物缺乏食慾、飼料消耗量降低，新母豬不發情、公豬缺乏性慾，造成生育力降低與高死亡率等現象；其中死產占6%，離乳前死亡占20%，上市前死亡為30%。稍後研究證明，改用表現具有組織專一性之啟動子所構築之轉殖基因，確可充分克服前述生理缺陷。例如使用牛之乳白蛋白( $\alpha$ LA)啟動子序列所構築之轉殖基因，經基因轉殖後產生之轉基因動物，確能獲得高水平之基因表現效果，且其表現具有乳腺組織特異性。而源自轉基因小鼠、轉基因豬及轉基因乳山羊等乳汁中含有之重組 hF 及(或)重組hFVIII(Chen *et al.*, 2002)分別業經證明具有如同正常人類血漿之凝血活性。

## 六、國內外發展現況

目前基改動物之產製策略，乃以使用具有組織專一性表現之轉殖基因者為主流，其中特別以乳腺專一性表現之基改家畜包括：乳牛、乳山羊及豬等，提供生產特定重組蛋白質之研究成果最引人矚目；藉由此一策略生產之標的蛋白質範圍涵蓋甚廣，包括：醫藥用蛋白質、機能性蛋白質、環保酵素、疫苗、工業用之生物鋼(biosteel)、抗病、抗熱及異種器官移植等。此外，隨著體細胞複製羊-桃莉(Dolly)及體細胞基因轉殖複製羊-波莉(Polly)出生後，近年來對於基改動物之產製策略，亦由基因顯微注射法逐漸轉向藉由體細胞核移植法為之。

國內自 1980 年代中期即著手整合基改動物之研究團隊，在行政院國科會及農委會經援下，應用顯微注射法展開基改小鼠及基改豬之產製試驗，並於 1989 年首度成功產製帶有人類 B 型肝炎病毒表面抗原及人類乳突瘤病毒等基因序列之基改小鼠，可提供作為肝炎及子宮頸癌等研究之良好動物模式。迄今，國內基因改造動物之研究團隊遍及全省，中央研究院、國家衛生研究院、台灣大學、成功大學、國科會實驗動物中心及台灣動物科技研究所等跨單位間之合作，已將基改動物之產製技術例行化，並陸續成立基改動物中心。特別在近十年間，國內基改家畜之研究成果豐碩，包括涉及醫藥、抗



病、抗熱、環保及異種器官移植等有關之基改豬、乳山羊及乳牛，均已陸續被應用基因顯微注射法及體細胞核移植法成功產出；其中進展最早之人類凝血第九因子基改豬，且已完成量產、大量純化及生物安全試驗，配合最近成立之基因轉殖種畜禽隔離田間試驗場進行基因改造動物、環境及消費者間之安全評估後，未來擬將技術轉移及邁入臨床試驗階段。

## 七、商業價值

於 2000 年統計全球生技代工生產市場(worldwide contract manufacturing marketing)約為十億美元，其中轉殖哺乳動物所佔的比例為 4%，以源自基改家畜所生產之重組藥用蛋白的潛在商機而言，以人類第八及第九凝血因子為例，每公克市價分別可達  $2.9 \times 10^6$  及 40,000 美元(表 3)。基改動物之應用於農業、工業、環保及生物醫學等領域，將成為未來全球生技產業之主流；迄目前發表報告顯示，至少有三十六種重組蛋白質係藉由基改家畜生產之(表 4)，其中四種包括：ABX-EGF mAb,  $\alpha$ -1-antitrypsin, Antithrombin III, 及 MDX-CD4 mAb 等，且已進入臨床試驗期。鑑於重組醫藥蛋白市場需求之陸續成長，西元 2000 年全球製藥產業市場達 3,540 億美元，至 2005 年預估可成長至 5,730 億美元；因此以基因改造動物系統量產人類所需高價位重組蛋白質之技術及商業化過程研發，仍將為全球熱門之主題。

表 3、源自基改家畜生產重組藥用蛋白之潛在商機

類別	藥用蛋白						
	F	F	GC	蛋白質 C	抗凝血素	血纖維蛋白	血漿蛋白
需求量估計 (kg/year)	5	4	10	10	21	150	$3.15 \times 10^3$
目前市價 (US\$/gram)	$2.9 \times 10^6$	40,000	100,000	100,000	7,000	1,000	3.56
估計全球市場價值 ( $10^6 \times$ US\$/year)	870	160	1,000	100	150	150	1,120

表 4、嘗試經由應用 GM 動物進行量產醫藥用蛋白質之研發現況

Proteins/peptides	Companies	Development status	Therapeutic indications
ABX-EGF mAb	Abgenix	Phase I/II Phase II	Psoriasis Rheumatoid arthritis
ABX-RB2 mAb	Abgenix	Preclinical	EGF-dependent cancer
-I-antitrypsin	PPL Therapeutics	Phase II Phase I	Cystic fibrosis Emphysema
-I-proteinase inhibitor	Genzyme Transgenics	R&D	Hereditary deficiency
D2E7 antibody	Genzyme Transgenics	R&D	Arthritis
CTKA4 1G antibody	Genzyme Transgenics	R&D	Psoriasis/Rheumatoid arthritis
PRO 542 antibody	Genzyme Transgenics	R&D	HIV/AIDS
Antegren antibody	Genzyme Transgenics	R&D	Neurological disorder
Beta-interferon	Genzyme Transgenics	R&D	Multiple sclerosis
Bile salt stimulated lipase	PPL Therapeutics	Preclinical	Cystic fibrosis
C-1 esterase inhibitor	Pharming	Preclinical	Cystic fibrosis
Calcitonin (salmon)	PPL Therapeutics	Preclinical	Osteoporosis
Collagen	PPL Therapeutics	R&D	Many as a biosealant
Collagen type I	Pharming	Preclinical	Tissue repair
Collagen type II	Pharming	Preclinical	Rheumatoid arthritis
Extracellular superoxide	PPL Therapeutics	Preclinical	Peferfusion injury
Dismutase	PPL Therapeutics	Preclinical	Acute respiratory stress syndrome
Antithrombin III	Genzyme Transgenics	Phase III	Coronary artery bypass grafting
Factor VII	PPL Therapeutics Pharming	Preclinical Preclinical	Bleeding condition Hemophilia B
Factor XI	PPL Therapeutics Pharming	Preclinical Preclinical	Hemophilia B Hemophilia B
Fibrinogen	PPL Therapeutics Pharming	Preclinical Preclinical	Tissue glue for trauma and surgical procedures Tissue glue for trauma and surgical procedures
Glucagon-like peptide-1	PPL Therapeutics	R&D	Type-2 diabetes

Glutamic acid decarboxylase (GAD)	Genzyme Transgenics	R&D	Type-1 diabetes
Human growth hormone	Genzyme Transgenics	R&D	Body growth, fat mobilization
Human serum albumin	Genzyme Transgenics	R&D	Plasma expender and drug excipient
	PPL Therapeutics	R&D	Plasma expender and drug excipient
Insulin	Genzyme Transgenics	R&D	Plasma expender and drug excipient
Interferon alpha	Genzyme Transgenics	R&D	Cancer and various other disease
Lactoferrin	Pharming	Preclinical	Prevention of gastrointestinal tract
MSP-1 (malaria vaccine)	Genzyme Transgenics	R&D	Malaria
MDX-CD4 mAb	Medarex	Phase I	Rheumatoid arthritis
Protein C	PPL Therapeutics	Preclinical	Prevention of deep vein thrombosis
Tissue plasminogen activator	Genzyme Transgenics	R&D	Myocardial infarction and pulmonary embolism

## 八、國內發展目標

人類之凝血第九因子 (human factor IX, hFIX) 為血液凝集反應重要因子之一，B 型血友病為此因子之基因先天性缺陷，此疾病為性聯遺傳且以男性患者居多，其發生率約 1/30,000；患者由於血漿中缺乏 hFIX，遂導致凝血功能之異常，必需經由外源注射 hFIX，始克順利維生。為改善哺乳仔猪之育成率及組織專一性表現人類凝血第九因子於豬之乳腺，將豬乳鐵蛋白及人類凝血第九因子基因分別與與牛  $\alpha$  乳白蛋白啟動子構築成轉殖基因，將基因顯微注射用之等濃度轉殖基因以等體積混合後，再進行基因注入及胚移置，以此方法共獲得二系攜雙基因(豬乳鐵蛋白及人類凝血第九因子基因)之轉殖豬。經收集該雙基因轉殖母豬不同泌乳期乳汁進行人類凝血第九因子之定量及定性分析，結果證實每毫升豬乳中含有之人類凝血第九因子濃度約 200-500  $\mu\text{g}$ ，為正常人血漿中所含有凝血第九因子濃度(5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )之 40-100 倍(吳，1999)。以正常豬之泌乳量(520 公升/年)而言，只需維持約 30 頭人類凝血第

九因子基因轉殖母豬，即可滿足目前全球之需求量。此外，針對此等重組之人類凝血第九因子進行凝血活性分析，結果亦證實具有如正常人血漿中所含有之凝血第九因子的活性。其中一頭高繁殖性能之第一代表現雙基因轉殖母豬，總計 7 胎之平均產子頭數 12.14 頭，每胎平均活仔頭數 10.30 頭，活仔育成率 100%，該母豬係於其泌乳期之乳腺同時表現豬乳鐵蛋白及人類第九凝血因子二種重組蛋白質，此同時表現雙基因之三歲齡第一代母豬耳皮膚成纖維母細胞被當作供核細胞，以核移植方法進行複製豬之研究，合計 11 次之複製豬試驗，共產製 795 個外觀形態完整之複製胚，經胚移置於 11 頭同期發情處理之受胚豬，其中三頭受胚豬發生早期流產，合計流產 6 個已成形之複製豬胎兒，另 3 頭受胚豬則順利懷孕至預產期，以剖腹產方式成功獲得 4 頭攜雙轉殖基因之複製豬，其中一頭出生後第四天弱死，其餘健康狀況良好，經公開徵選命名為酷比 (Coppypig)，分別稱為酷比 1 號、2 號及 3 號。此次成功複製豬乳鐵蛋白及人類第九凝血因子雙基因轉殖豬，不僅為台灣第一例以成年母豬體細胞核移置方式所產製的複製豬，並創下世界兩個第一，除了是世界首例以成年母豬耳皮膚細胞作為供核者外，同時也是全球第一例雙基因轉殖複製豬 (Lee *et al.*, 2003)。此結果亦提示台灣之生物科技發展，部分領域已趕上國際先進國家，目前正進行量產、純化及生物安全評估中，部份關鍵性技術亦申請專利中，未來期望能將此重組醫藥蛋白質之整套生產技術轉移至產業界，為台灣生技產業開創另一商機。

國內對於基改家畜的研究目標為藉由基因轉殖技術，提高母豬乳中豬乳鐵蛋白之含有濃度，從而增強哺乳仔豬之抗病能力，達成有效預防仔豬下痢之目的，已成功產生攜帶  $\alpha LA$ - $pLF$  之基改母豬，於泌乳期間之豬乳鐵蛋白濃度確實較高(圖 1)；建立醫藥分子牧場(molecular pharming)，進行量產醫藥用蛋白(例如人類凝血第八、第九因子及過敏原等蛋白)，俾使我國畜牧產業，得以順利轉型成為生物科技產業；同時也期望藉由基改家畜產製帶有人類重要抗原(如白血球表面抗原、補體活化抑制因子)等基因之基改豬，俾提供異體器官移植之使用，包括試圖產製帶有  $hDAF$  之基改豬，以克服異體器官移植後經常面臨之超級性排斥(hyperacute rejection)問題；及試圖產製帶有  $HLA-II$  之基改豬(Tu *et al.*, 1998)，以獲得更具人性化之豬器官，可提供異體器官移植之使用(表 6)。

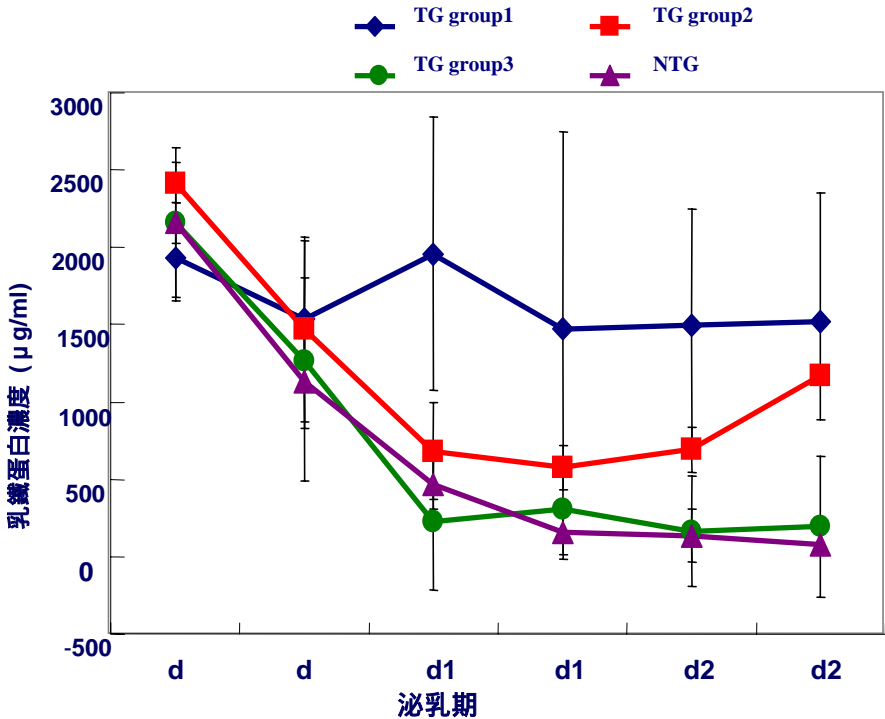


圖 1、攜帶 *LA-pLF* 之基改母豬在全程二十五日泌乳期間乳中含有乳鐵蛋白濃度之變化。

## 九、未來展望

以基因改造動物系統量產人類所需高價位重組蛋白質之技術及商業化過程研發，仍將為全球熱門之主題。應用體細胞核移植方法進行基因改造動物的產製技術，未來在治療用複製、異種器官移植及再生醫學等領域，均甚具其應用潛力，雖然我們務必立法禁止複製人類，惟亦宜立法允許應用複製技術進行細胞、組織及器官工程等相關研究，俾因應器官移植之所需。惟鑑於基改動物體及其相關衍生產品，在上市之前尚有諸多安全性疑慮及是否對自然環境生態造成衝擊等問題亟待評估，均係最被社會大眾關心之重要議題，因此各國政府在兼顧產業發展及產品安全問題，彼此間如何取得平衡並

確立妥適之法律規範；此等議題此刻正嚴厲考驗著各國執政當局及其專家學者們之智慧。台灣之基改動物研究已進入應用之階段，如何將具體成果進一步產業化，直接影響整體生技產業的進展，產、官、學界短期內迫切需要定出一套適用於台灣之安全性評估標準及管理辦法，以促進生技產業之發展。

表 6、 攜帶人類重要抗原包括白血球表面抗原 (*HAL*) 及補體活化抑制因子 (*hDAF*) 等基因之基改豬，可提供進行異體器官移植之使用

轉殖基因	親代 GM 豬 編 號	GM 豬之出 生日期	性別	轉殖基因之性腺傳 承情形
補體活化抑制因( <i>hDAF</i> ) :				
<i>CMV-hDAF</i>	<i>Y116-12A</i>	4/15/99	♀	已確認具有性腺傳承(F1)
	<i>Y167-10A</i>	5/28/99	♀	已確認具有性腺傳承(F1)
白血球表面抗原( <i>HAL</i> ) :				
<i>HAL-DP A1+B1</i>	<i>Y113-7&amp;-8</i>	10/18/96	♂/♀	已確認具有性腺傳承(F3)
<i>HAL-DQ A1+B1</i>	<i>Y122-02A</i>	4/21/99	♂	已確認具有性腺傳承(F1)
<i>HAL-DQ A1</i>	<i>Y215-10A</i>	6/30/00	♀	性腺傳承待確認
<i>HAL-DR B1</i>	<i>L218-12A</i>	7/8/99	♀	已確認具有性腺傳承(F1)
<i>HAL-DR A1+B1</i>	<i>D146-13A</i>	4/30/00	♀	性腺傳承待確認

## 十、主要參考文獻

- 吳信志。1999。豬乳鐵蛋白及(或)人類凝血第九因子基因轉殖小鼠及基因轉殖豬之研究。國立台灣大學畜產研究所博士論文。
- Brinster, R. L., H. Y. Chen, M. E. Trumbauer, M. K. Yagle, and R. D. Palmiter. 1985. Factors affecting the efficiency of introducing foreign DNA into mice by microinjecting eggs. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*82 :4438-4442.
- Chen, C. M., C.H. Wang, S. C. Wu, S. W. Lin, and W. T. K. Cheng. 2002. Temporal and spatial expression of biologically active human factor VIII in the milk of transgenic mice derived by bovine  $\alpha$ -Lactalbumin promoter. *Transgenic Res.* 11: 257-268.
- Choo, K. B., L. N. Liew, and H. C. Wang. 1989. Production of transgenic mice carrying the human hepatitis B virus or the human papillomavirus DNA sequences in Taiwan: Analysis of physical structure and hereditary mode. *Proc. Natl. Sci.* 13 :14-318.
- Gordon, J. W., G. A. Scangos, D. J. Plotkin, J. A. Barbova, and F. H. Ruddle. 1980. Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 77 :7380-7384.
- Houdebine, L. M. 1994. Production of pharmaceutical proteins from transgenic animals. *J. Biotechnol.* 34: 269-287.
- Hammer, R. E., V. G. Pursel, C. E. Rexroad Jr., R. J. Wall, D. J. Bolt, K. M. Ebert, R. D. Palmiter, and R. L. Brinster. 1985. Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection. *Nature* 315 : 680-683.
- Krimpenfort, P., A. Rademakers, W. Eyestone, A. van der Schans, S. van der Broek, P. Kooiman, E. Kootwijk, G. Platenburg, F. Pieper, R. Strijker, and H. de Boer, 1991. Generation of transgenic dairy cattle using *in vitro* embryo production. *Bio/Technol.* 9:844-847.

- Lee, J. W., S. C. Wu, X. Cindy Tian, M. Barber, T. Hoagland, J. Riesen, C. F. Tu, K. H. Lee, W. T. K. Cheng and X. Yang. 2003. Production of cloned pigs by whole cell intracytoplasmic microinjection. *Biol. Reprod.* 69: 995-1001.
- Simons, J. P., M. McClenaghan, and A. J. Clark. 1987. Alteration of the quality of milk by expression of sheep  $\beta$ -lactoglobulin in transgenic mice. *Nature* 328: 530-532.
- Schnieke, A. E., A. J. Kind, W. A. Ritchie, K. Mycock, A. R. Scott, M. Ritchie, I. Wilmut, A. Colman, and K. H. S. Campbell. 1997. Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts. *Science* 278 : 2130-2133.
- Tu, C. F., T. Sato, M. Hagihara, K. H. Lee, C. N. Weng, R. M. Chu, K. Tsuji, and C. J. Lee. 1998. Expression of HLA-DP Antigen on peripheral blood mononuclear cells of HLA-DP transgenic pigs. *Transplant. Proc.* 30: 3502-3503.
- Wall, R. J. 1996. Modification of milk composition in transgenic animals. *In: Biotechnology's role in the genetic improvement of farm animals* (Eds. R. H. Miller, V. G. Pursel and H. D. Norman), pp. 165-188. Amer. Soc. of Anim. Sci., Savoy, Illinois, USA.
- Wilmut, I., A. E. Schnieke, J. Mcwhir, A. J. Kind, and K. H. S. Campbell. 1997. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 385: 810-81.