

基因轉殖食品與微生物之現況與前景

潘子明 所長

國立台灣大學微生物與生化學研究所

摘要

2003 年全世界基因改造作物之種植面積連續七年來以兩位數增加。2002 年增加 12%，2003 年則增加 15%。在十八個國家約 700 萬農民共種植了 6770 萬公頃的基因改造作物。從 1996 年到 2003 年，基因改造作物的種植面積增加了 40 倍，也就是從 170 萬公頃增加到 6770 萬公頃。

2003 年則約 99% 的基因改造作物集中種植於六個國家，即美國占 63% (4280 萬公頃)，阿根廷占 21% (1390 萬公頃)，加拿大占 6% (440 萬公頃)，巴西及中國大陸約各占 4% (300 萬及 280 萬公頃)，南非佔 1% (40 萬公頃)。其中中國大陸及南非增加百分率最大，約增加 33%。

2003 年基因改造大豆種植面積 (4140 萬公頃) 佔全世界基因改造作物總種植面積的 61%。基因改造玉米種植面積 (1550 萬公頃) 佔其世界基因改造作物總種植面積的 23%。基因改造棉花種植面積 (720 萬公頃) 佔其世界基因改造作物總種植面積的 11%。其他油菜種植面積 (360 萬公頃) 佔其世界基因改造作物總種植面積的 5%。

從 1996 年至 2003 年的 8 年期間，以基因改造作物之特性言，耐除草劑產品一直佔領先地位，其次為抗蟲特性品種。在 2003 年耐除草劑之大豆、玉米、油菜與棉花其種植面積 (4970 萬公頃) 占全部 6770 萬公頃的 73%。Bt 抗蟲特性之作物佔 1220 萬公頃 (18%)。耐除草劑與抗蟲特性兼具之棉花與玉米由 2002 年的 440 萬公頃增加到 580 萬公頃，佔全部基因改造作物的 8%。

2003 年基因改造大豆種植面積 (4140 萬公頃) 佔其世界其總種植面積 (7600 萬公頃) 的 55%。基因改造玉米種植面積 (1550 萬公頃) 則佔其世界其總種植面積 (14000 萬公頃) 的 11%。基因改造棉花種植面積 (720 萬公頃) 則佔其世界其總種植面積 (3400 萬公頃) 的 21%。其他油菜種植面積 (360 萬公頃) 則佔其世界其總種植面積的 16%。2003 年全球基因改造作物之產值達 45 億至 47 億 5000 萬美元，比 2002 年的 40 億美元增加了 12.5% 至 18.8%。預計到 2005 年將達 50 億美元。

目前工業上對發酵食品菌種的改良著重於對酵母菌及乳酸菌的基因工程改良。酵母菌是食品工業上重要的發酵菌，目前已獲准商業化使用的基因轉殖酵母菌有麵包酵母與啤酒酵母。從全球的角度來看，發酵的乳製品佔所有發酵食品的 10%。乳製品發酵主要是乳酸菌的作用。利用基因技術建構品質優良的食用乳酸桿菌工程菌具有巨大的潛在經濟價值和社會效益。食用乳酸桿菌基因工程改良的方向主要包括下列三個方面：(1) 提高生產菌在食品發酵過程中的穩定性。(2) 改善發酵食品的品質。(3) 縮短生產時期。

食品添加劑方面典型的應用如下：(一) 酶製劑(二) 胺基酸 (三) 甜味劑 (四) 香料等的生產。

採用基因轉殖技術，在動植物或其細胞中進行基因表現，並製造有益於人類健康的保健成分或有效因子。由此提煉出的各種藥用蛋白，具有成本低、生物活性高、不傳染其他病毒、「生產」過程中不污染環境等特點。

用基因轉殖植物生產基因工程疫苗—食品疫苗，是當前食品生物技術研究的焦點之一。食品疫苗就是將某些致病微生物的有關蛋白質(抗原) 基因，應用基因轉殖技術導入某些植物受體細胞中，並使其在受體植物細胞中得以表現，從而使受體植物成爲具有抵抗相關疾病的疫苗。用基因轉殖植物生產的疫苗保持了重組蛋白的理化特徵和生物活性，可直接食用，也可純化後做疫苗使用。由於這些重組蛋白基因可以長期地存於基因轉殖植物的種子中，有利於疫苗的保存、生產、運輸和推廣。因此，基因轉殖植物作爲廉價的疫苗生產系統，雖然才剛剛起步，卻具有很好的發展潛力。

正文

生物技術可以增加糧食生產，然而由其生產的基因改造食品 (genetically modified food)，其安全性亦引起廣泛討論。農業生物技術的應用，確實增加糧食供應的穩定性，也改善了食品的品质。眾所週知黃金米生產量的快速增加，確實改善非洲窮人的營養。另一方面，很多環保、消費與某些宗教團體的成員則認為，生物技術將對世界造成傷害，他們認為生物技術所造成的傷害將遠大於其所帶來的利益。這必須更多的資訊，才能對生物科技的利弊作進一步的判定⁽¹⁾。

一、2003 年全世界基因改造作物之種植面積

人們早就應用生物技術於麵包、啤酒、酒、飲料、醬油及乳酪之生產。由於對 DNA 已有充分的認識，使得遺傳基因工程快速發展。科學家應用遺傳工程可將各種生物間之基因互相轉殖。由此而發展出基因改造生物 (genetically modified organisms, GMO) 以及活性改造生物 (living modified organisms, LMO)。在最近幾年基因改造作物 (GM crops) 發展的非常迅速。

2000 年世界人口為 60 億，預計到 2050 年將達 90 億，其中 90% 集中在亞洲、非洲及拉丁美洲等開發中國家。目前在開發中國家中有 8 億 1500 萬人營養不足，13 億人陷入貧窮。基因改造作物一般被認為可以改善世界食物、飼料及纖維之供應，並提高世界人們之財富。

2003 年全世界基因改造作物之種植面積連續七年來以兩位數增加。2002 年增加 12%，2003 年則增加 15%。在十八個國家約 700 萬農民共種植了 6770 萬公頃的基因改造作物⁽²⁾。在 2001 年則只有十三個國家 500 萬農民種植了 5260 萬公頃，在 2002 年則有十六個國家 600 萬農民種植了 5870 萬公頃。單從 2001 年到 2002 年，基因改造作物的種植面積增加了 610 萬公頃，也就是增加了 12%。從 2002 年到 2003 年，基因改造作物的種植面積增加了 900 萬公頃，也就是增加了 15%。從 1996 年到 2003 年，基因改造作物的種植面積增加了 40 倍，也就是從 170 萬公頃增加到 6770 萬公頃。

此高度成長顯示不論在開發中國家或已開發國家，農民對基因改造作物有極高的接受度。種植基因改造作物之國家，從 1996 年的 6 個國家，增加到 1998 年的 8 國、1999 年的 12 國、2002 年的 16 國以及 2003 年的 18 國。目前有許多國家正從事新品系的開發研究。

二、基因改造作物種植面積在已開發和開發中國家之分布

從 1997 年到 2003 年，開發中國家基因改造作物產量之增加百分率分別為 14%、16%、18%、24%、26%、27% 與 28%。2003 年 6770 萬公頃耕種基因改造作物之面積中，約有 2040 萬公頃 (30%) 耕地是在開發中國家。2002 與 2003 年比較，已開發國家之耕種面積增加 (460 萬公頃)，要比開發中國家的 440 萬公頃多。增加比率南半球開發中國家的 28% 約為北半球已開發國家 (11%) 的 2 倍多 (表一)。

表一 2001、2002 及 2003 年全球已開發國家與開發中國家基因改造作物種植面積
(單位：百萬公頃)

	2001	%	2002	%	2003	%	+/-*	%*
已開發國家	39.1	74	42.7	73	47.3	70	+4.6	+11
開發中國家	13.5	26	16.0	27	20.4	30	+4.4	+28
總計	52.6	100	58.7	100	67.7	100	+9.0	+15

* 2002 與 2003 年之比較

三、基因改造作物種植面積在各國家之分布

2002 年 99% 的基因改造作物集中種植於四個國家，即美國占 66% (3900 萬公頃)，阿根廷占 23% (1350 萬公頃)，加拿大占 6% (350 萬公頃)，

中國大陸則占 4% (210 萬公頃)。2003 年則約 99% 的基因改造作物集中種植於六個國家，即美國占 63% (4280 萬公頃)，阿根廷占 21% (1390 萬公頃)，加拿大占 6% (440 萬公頃)，巴西及中國大陸約各占 4% (300 萬及 280 萬公頃)，南非佔 1% (40 萬公頃)。其中中國大陸及南非增加百分率最大，約增加 33% (表二)。

表二 2001、2002 及 2003 年全球各國基因改造作物種植面積 (單位：百萬公頃)

國家	2001 年	%	2002 年	%	2003 年	%	+/-*	%*
美國	35.7	68	39.0	66	42.8	63	+3.8	+10
阿根廷	11.8	22	13.5	23	13.9	21	+0.4	+3
加拿大	3.2	6	3.5	6	4.4	6	+0.9	+25
巴西	--	--	--	--	3.0	4	--	--
中國大陸	1.5	3	2.1	4	2.8	4	+0.7	+33
南非	0.2	<1	0.3	1	0.4	1	+0.1	+33
總計	52.6	100	58.7	100	67.7	99	+9.0	+15

* 2002 與 2003 年之比較

中國大陸基因改造棉花種植面積連續五年均不斷增加，從 2002 年的 210 萬公頃增加到 2003 年的 280 萬公頃。2003 年大陸 480 萬公頃棉花種植面積中有 280 萬公頃種植基因改造品種，即約 58% 之總種植面積為基因改造品種。

南非基因改造作物之玉米、大豆與棉花均增加，尤其用為食品之白玉米增加最多，從 2001 年的 6000 公頃增加到 2003 年的 84000 公頃。

加拿大之基因改造作物種植面積 2002 年比 2003 年約增加 26% 而達到 440 萬公頃，油菜、玉米與大豆三種作物之種植面積總共增加了 100 萬公頃。

阿根廷雖然在 2002 年大豆幾乎 100% 均已種植基因改造品種，2003 年基因改造作物總種植面積仍增加 3%，主要是 Bt 玉米的增加。

美國 2003 年基因改造作物總種植面積約增加 10% (380 萬公頃)，主要是 Bt 玉米、耐除草劑玉米與耐除草劑大豆之增加。

澳洲由於百年來最嚴重乾旱，棉花種植面積不到平常的三分之一，故基因改造作物總種植面積稍微減少。印度 Bt 棉花種植面積之增加量為 100%。西班牙 2003 年 Bt 玉米之種植面積增加三分之一，達到全國玉米種植面積的 6%。

於 2001 年首次開始種植基因改造作物的烏拉圭及羅馬尼亞，其種植面積亦有增加而已逾五萬公頃。在 2002 年開始種植基因改造作物的哥倫比亞與宏都拉斯亦有適度的成長。

2003 年新增加種植基因改造作物的國家為巴西與菲律賓。巴西於 2003 年 9 月官方證實開始種植耐除草劑大豆，其種植面積約 300 萬公頃。菲律賓首次於 2003 年種植 2 萬公頃的 Bt 玉米。種植基因改造作物之國家 2002 年有 16 國，2003 年再加上巴西與菲律賓成為 18 國，其中開發中國家有 11 國；已開發國家 7 國。

四、各類基因改造作物之種植面積

2003 年基因改造大豆種植面積 (4140 萬公頃，2002 年為 3650 萬公頃) 佔全世界基因改造作物總種植面積的 61%，此數字比 2002 與 2001 年的 51% 與 46% 高。基因改造玉米種植面積 (1550 萬公頃，2002 年為 1240 萬公頃) 則佔其世界基因改造作物總種植面積的 23%，略低於 2002 年的 27%。基因改造棉花種植面積 (720 萬公頃，2002 年為 680 萬公頃) 則佔其世界基因改造作物總種植面積的 11%。其他油菜種植面積 (360 萬公頃，2002 年為 300 萬公頃) 則佔其世界基因改造作物總種植面積的 5% (表三)。

表三 2001、2002 及 2003 年全球各類基因改造作物種植面積 (單位：百萬公頃)

基因改造作物種類	2001 年 %		2002 年 %		2003 年 %		+/-*	%*
大豆	33.3	63	36.5	62	41.4	61	+4.9	+13
玉米	9.8	19	12.4	21	15.5	23	+3.1	+25
棉花	6.8	13	6.8	12	7.2	11	+0.4	+6
油菜	2.7	5	3.0	5	3.6	5	+0.6	+20
南瓜	<0.1	<1	<0.1	<1	<0.1	<1	(--)	--
木瓜	<0.1	<1	<0.1	<1	<0.1	<1	(--)	--
總計	52.6	100	58.7	100	67.7	100	+9.0	+15

* 2002 與 2003 年之比較

五、各類特性基因改造作物之種植面積

從 1996 年至 2003 年的 8 年期間，以基因改造作物之特性言，耐除草劑產品一直佔領先地位，其次為抗蟲特性品種。在 2003 年耐除草劑之大豆、玉米、油菜與棉花其種植面積 (4970 萬公頃) 占全部 6770 萬公頃的 73%。Bt 抗蟲特性之作物佔 1220 萬公頃 (18%)。耐除草劑與抗蟲特性兼具之棉花與玉米由 2002 年的 440 萬公頃增加到 580 萬公頃，佔全部基因改造作物的 8% (表四)。

表四 2001、2002 及 2003 年全球各種特性基因改造作物種植面積 (單位：百萬公頃)

基因改造作物特性	2001 年 %		2002 年 %		2003 年 %		+/-*	%*
耐除草劑	40.6	77	44.2	75	49.7	73	+5.5	+12
抗蟲害	7.8	15	10.1	17	12.2	18	+2.1	+21
耐除草劑及抗蟲害	4.2	8	4.4	8	5.8	8	+1.4	+32
抗病毒及其他	<0.1	<1	<0.1	<1	<0.1	--	--	--
總計	52.6	100	58.7	100	67.7	100	+9.0	+15

2002 與 2003 年之比較

2003 年種植最多之作物種類與品系為耐除草劑大豆與 Bt 玉米，前者種植面積達 4140 萬公頃 (佔全部基因改造作物的 61%)，共有七個國家種植。後者種植面積達 910 萬公頃 (佔全部基因改造作物的 13%)，共有九個國家種植。Bt 玉米最大增加國家為美國。南非 2003 年種植 84000 公頃食品用白玉米，比 2001 年開始種植時增加了 14 倍。其他七個種植 Bt 玉米國家之種植面積均有增加。同時具耐除草劑與抗蟲特性之玉米與棉花種植面積顯著增加，反映出含多重基因之基因改造作物正受到更高重視。

六、2003 年基因改造大豆玉米棉花及油菜各占該類作物總種植面積之百分比

2003 年基因改造大豆種植面積 (4140 萬公頃，2002 年為 3650 萬公頃) 佔其世界其總種植面積 (7600 萬公頃) 的 55%，此數字比 2002 與 2001 年的 51%與 46%高。基因改造玉米種植面積 (1550 萬公頃，2002 年為 1240 萬公頃) 則佔其世界其總種植面積 (14000 萬公頃) 的 11%，略高於 2002 年的 9%。基因改造棉花種植面積 (720 萬公頃，2002 年為 680 萬公頃) 則佔其世界其總種植面積 (3400 萬公頃) 的 21%，略高於 2002 年的 20%。其他油菜種植面積 (360 萬公頃，2002 年為 300 萬公頃) 則佔其世界其總種植面積的 16%，高於 2002 年的 12% (表五)。

2003 年全球基因改造作物之產值達 45 億至 47 億 5000 萬美元，比 2002 年的 40 億美元增加了 12.5%至 18.8%。預計到 2005 年將達 50 億美元⁽²⁾。

表五 2003 年全球各類基因改造作物種植面積及其佔該類作物之百分比 (單位:百萬公頃)

作物種類	全球總 種植面積	基因改造作物 種植面積	基因改造作物 種植面積%
大豆	76	41.4	55
棉花	34	7.2	21
油菜	22	3.6	16
玉米	140	15.5	11
總計	272	67.7	25

七、目前全世界已經上市並商品化的基因轉殖作物

目前全世界已經上市並商品化的基因轉殖作物有（世界各國對不同之基因轉殖作物之核可，視各國法律規定以及審查進度而有所不同）：

- (一) 大豆：耐除草劑大豆（Roundup Ready）以及高油酸含量大豆。以前者為市場大宗，目前市面上的基因轉殖大豆 99% 為耐除草劑大豆。
- (二) 玉米：有抗蟲害及耐除草劑兩種。前者約占三分之二，都是導入蘇力菌（Bt）毒素基因，使具抗蟲特性；耐除草劑的玉米，分別是嘉磷塞（glyphosate）及固殺草（glufosinate）兩種除草劑。
- (三) 油菜：除抗蟲害與耐除草劑品種外，還有種子中含高量月桂酸的品種。
- (四) 棉花：棉花栽培時，最怕蟲害及雜草。基因轉殖後的改良棉花，可以達到抗蟲及方便雜草管理的目的，因此大受農民歡迎。
- (五) 蕃茄：經轉殖過的蕃茄不易腐爛，同時蕃茄的果膠含量增加，可以減少加工殘渣，降低加工成本。
- (六) 稻米：目前研發成果有低蛋白質含量的水稻，另外在發展中的還包括提高維生素 A 前驅物的含量、改良水稻中的碳水化合物、蛋白質、油脂等成分。
- (七) 馬鈴薯：最早轉殖成功的馬鈴薯具有抗蟲及耐除草劑的特性，爾後則有抗病毒特性之品種上市。而目前最新的研究是朝著減少水分含量、高硬度、收成後不變色、以及加工過程中可抑制油脂吸收的低熱量品種。
- (八) 木瓜：康乃爾大學及夏威夷大學成功研發出抗病毒的木瓜。
- (九) 甜菜：除了耐除草劑的甜菜之外，荷蘭公司也開發出高果糖含量的甜菜品種。
- (十) 小麥：目前耐除草小麥只在加拿大被核準可做為食品。

基因改造作物的發展近十年來，至少有 120 種植物被轉殖成功。目前美國所生產的農產品中，約有三分之一的玉米、二分之一的大豆，及二分之一的棉花是基因轉殖作物。

八、基因改造產品之安全性

有很多對生物技術生物安全性的討論，其主軸為風險與不確定性。歧見主要在產品出口國“以科學為基礎的觀點”以及產品輸入國的“預先警戒原則”。環保和宗教團體對基因改造產品對後代子孫之影響提出可能有風險之警告；認為消費者有知的權利，故基因改造產品應加以標示，使其購買時能確知那些是非基因改造產品，以降低消費此類產品之風險。因此對生物技術之發展應用，目前最重要的是風險管理。

由於許多基因改造產品使用於食品，故在其上市前應確認其對人類及環境之安全。在 2001 年於曼谷舉辦了一個由 OECD, FAO, WHO, UNEP, CBD 及英國與泰國政府主辦的會議，針對基因改造產品之安全評估方法、其可能產生之副作用、其優點、以及研究之贊助等議題作廣泛討論⁽³⁾。

基因改造產品對環境之影響，反對農業生物科技者最大的疑慮是基因改造作物會與非基因改造生物雜交，變成優勢品種而改變環境生態。其他如可能會影響土壤菌相、失去多樣性、產生抗性等均是應加以考慮者。Serageldin 及 Persley⁽⁴⁾ 提出下列項目呼籲科學家要加以重視：活性改造生物之田間試驗與上市之規範、早期之危害警告系統、對環境之影響以及對生物多樣性之危害等。目前美國環保局已規定種植基因改造作物時，基因改造作物與非基因改造作物應以 80%：20%之面積比種植，實施所謂的昆蟲抗性管理 (insect resistance management, IRM)，一來可以減緩抗性昆蟲生成之速度，二來亦可減少對生物多樣性之危害。

中華民國衛生署於民國九十年由國內各學會推薦學者專家組成基因改造食品審議委員會 (Genetically Modified Food Advisory Committee, GMFAC)，對廠商提出之基因改造食品進行審查⁽⁵⁾。至 2003 年 12 月底為止

共審查通過九件基因改造食品，准許其在國內流通、販賣、加工等（詳見表六）⁽⁶⁾。

表六 中華民國衛生署核可之基因改造食品一覽表

案號	種類	品名	轉殖品系	申請者	核准日期	備註
01	大豆	耐嘉磷塞基因改造黃豆	40-3-2 (RRS)	孟山都遠東股份有限公司台灣分公司	91.07.22	有效日期至 96.07.22
02	玉米	抗蟲基因改造玉米	MON810	孟山都遠東股份有限公司台灣分公司	91.10.15	有效日期至 96.10.15
03	玉米	耐嘉磷塞基因改造玉米	GA21	孟山都遠東股份有限公司台灣分公司	92.07.22	有效日期至 97.07.22
04	玉米	耐嘉磷塞基因改造玉米	NK603	孟山都遠東股份有限公司台灣分公司	92.04.11	有效日期至 97.04.11
05	玉米	抗蟲及耐固殺草基因改造玉米	Bt11	台灣先正達股份有限公司	核給臨時許可	92.3.31 通過食品安全書面審查
06	玉米	抗蟲基因改造玉米	Event176	台灣先正達股份有限公司	核給臨時許可	92.3.31 通過食品安全書面審查
07	玉米	耐固殺草基因改造玉米	T25	拜耳作物科學股份有限公司	91.08.16	有效日期至 96.08.16
08	玉米	抗蟲及耐固殺草基因改造玉米	TC1507	台灣杜邦股份有限公司	92.11.17	有效日期至 94.11.17
09	玉米	抗蟲及耐固殺草基因改造玉米	DBT418	孟山都遠東股份有限公司台灣分公司	92.10.16	有效日期至 94.10.16
10	玉米	耐固殺草基因改造玉米	DLL25	孟山都遠東股份有限公司台灣分公司	92.10.20	有效日期至 94.10.20
11	玉米	抗根蟲基因改造玉米	MON863	孟山都遠東股份有限公司台灣分公司	92.10.16	有效日期至 97.10.16

(資料來源：行政院衛生署 2003)

一般對基因改造食品之安全評估，包含新蛋白質之安全評估、作物組成份分析、農藝性狀分析與環境影響評估等。對新蛋白質之評估項目包括口服

急毒性試驗、過敏性分析 (基因來源與胺基酸序列比對等)、摹擬腸胃液消化試驗與加工穩定性/熱穩定性試驗等。

作物組成份分析則包括一般營養成份 (分胺基酸/脂肪酸/礦物質分析與抗營養素分析) 與動物餵食試驗。而農藝性狀分析則包括產量、疾病/害蟲易感性、開花/成熟/收穫時間、植物形態、產量、繁殖能力、逆境生存能力與新性狀表現。

環境影響評估則含新蛋白質降解能力、與野生親源種的自然雜交能力、雜草化可能、對非目標昆蟲、土壤微生物及野生動物的影響等。

在美國基因改造生物之安全性由三個單位審查：美國農業部 (USDA) 負責田間試驗及環境安全管理，其最高原則為“安全地生長 (Safe to Grow)”。美國環保署 (EPA) 負責害蟲防治產物對環境、食品及飼料之安全、登記與販售管理，其管理員則為“對環境安全 (Safe for the Environment)”。食品藥物管理局 (FDA) 負責食物及飼料安全管理，講求的是“吃得安全 (Safe to Eat)”。政府之評估分多層步驟，由小規模之試驗，擴大到商業生產規模，希望藉由對基因改造作物之深一層認識，不斷探討消費者之疑慮，以及學者專家之嚴格把關，能使此一新科技之產物造福人類而不是引起不必要的爭議。

九、基因轉殖發酵食品

發酵技術有著悠久的歷史，早在幾千年前，人們就開始從事釀酒、製醬、製奶酪等生產。食品發酵是應用微生物作用或酶作用於原料，使之發生相關的化學變化，最終產生口味、色澤、感官上的變化。而現代發酵技術是在傳統發酵的基礎上，結合現代的 DNA 重組、細胞融合、分子修飾和改造等新技術發展起來的，可以被用來改進發酵食品中所用的微生物品種，從而改善發酵食品的品質與風味。目前工業上對發酵食品菌種的改良著重於對酵母菌及乳酸菌的基因工程改良。酵母菌是食品工業上重要的發酵菌，目前已獲准

商業化使用的基因轉殖酵母菌有麵包酵母與啤酒酵母。利用基因轉殖啤酒酵母所生產的啤酒已被生產者、媒體代表與部分消費者飲用。基因轉殖技術改良乳酸菌等菌種的研究也在進展中。表七列舉了部分基因工程改良的基因工程菌。

穩定蛋白酶生產、提高乳糖利用率以及生產菌的噬菌體抗性 etc 對發酵食品微生物的遺傳改造主要有以下幾方面。

1. 麵包

第一個採用基因工程改造的食品微生物為麵包酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)。由於把具有優良特性的酶基因轉殖至該菌中，使該菌含有的麥芽糖透性酶 (maltose permease) 及麥芽糖酶 (maltase) 的含量比普通麵包酵母高，麵包加工中產生 CO₂ 氣體的量也較高，最終製造出膨發性能良好、鬆軟可口的麵包產品。這種基因改造過的微生物菌種 (或稱為基因菌)，在麵包烘烤過程會被殺死，所以使用上是安全的，英國於一九九〇年已經批准使用。

2. 醬油

醬油風味的優劣與醬油在釀造過程中所生成胺基酸的量密切相關，醬油中胺基酸的生成與多種酶的活性有關。目前羧肽酶 (分解 CO-NH 鍵) 和鹼性蛋白酶的基因已轉殖並轉型成功，在新建構的基因工程菌株中鹼性蛋白酶的活力可提高五倍，羧肽酶的活力可大幅提高十三倍。

醬油製造中和壓榨性有關的多聚半乳糖醛酸酶、葡聚糖酶和纖維素酶、果膠酶等的基因均已被轉殖，當用高纖維酶活力的轉殖米麴黴生產醬油時，可使醬油的產率明顯提高。另外，在醬油釀造過程中，木糖可與醬油中的胺基酸反應產生褐色物質，從而影響醬油的風味。而木糖的生成與製造醬油用米麴黴中木聚糖酶的含量與活力密切相關。米麴黴中的木聚糖酶基因已被成功選殖，用反義 RNA 技術抑制該酶的表現所建構的工程菌株釀造醬油，可大大地降低這種不良反應的進行，從而釀造出顏色淺、口味淡的醬油，以適應特殊食品製造的需要。

表七 基因工程改良的基因工程菌

基因工程菌名稱	改良之處	用途
<i>Lactobacillus</i>	修飾細菌素合成	乳製品生產、無污染物質生產
<i>Lactococcus</i>	修飾蛋白質活性、提高乳糖利用率 避免噬菌體感染 修飾溶菌酶合成	乳品生產加速乾酪熟化 提高菌種穩定性 乾酪生產，預防雜菌感染
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	修飾麥芽發酵 修飾碗豆脂肪氧化酶	啤酒生產，縮短發酵時間 增強麵團流變學特性及穩定性
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	修飾來自 <i>Enterobacter aerogenes</i> 或 <i>Acetobacter pasteurianus</i> 的 α -乙酸乳酸脫羧酶基因 修飾來自 <i>Aspergillus niger</i> 的葡萄糖澱粉酶基因 修飾來自 <i>Schwanniomyces occidentalis</i> 的澱粉酶和葡萄糖澱粉酶	縮短釀造週期 應用於澱粉降解和低熱量啤酒的生產 應用於澱粉生產酒精和低熱量啤酒生產
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	修飾來自 <i>Bacillus subtilis</i> 、 <i>Trichoderma barzianum</i> 或 barley 的 β -葡聚糖酶 修飾來自 <i>Trichoderma longibrachiatum</i> ，提高麥芽糖透性酶及麥芽糖酶的含量	應用於葡聚糖降解和啤酒過濾澄清 增加釀製酒的果味香，改善麵糰的烘烤特性

3. 啤酒

雙乙醯是影響啤酒風味的重要物質，當啤酒中雙乙醯的含量超過閾值 (0.02~0.10 mg/L) 時，就會產生一種令人不愉快的餿酸味，嚴重破壞啤酒的風味與品質。雙乙醯的產生與還原貫穿整個啤酒發酵過程，在正常的發酵過

程中，雙乙醯是由啤酒酵母細胞產生的 α -乙醯乳酸經非酶催化的氧化脫羧反應自發產生的。去除啤酒中雙乙醯的有效措施之一就是利用 α -乙醯乳酸脫羧酶。但由於酵母細胞本身沒有該酶活性，故利用基因轉殖技術將外源 α -乙醯乳酸脫羧酶基因導入啤酒酵母細胞，並使其表現，是降低啤酒中雙乙醯含量的有效途徑。

Sone 等人用乙醯脫羧酶的啓動子和穿梭質體載體將產氣大腸桿菌 α -乙醯乳酸脫羧酶基因導入啤酒酵母，並使其表現。當用此基因轉殖菌株進行啤酒釀造時，可使啤酒中的雙乙醯含量明顯降低，且不影響其他的發酵性能和啤酒中的正常風味物質。但由於用此法所建構的基因工程菌株中 α -乙醯乳酸脫羧基因存在於酵母的質體而不是染色體上，因而該基因易於隨著細胞分裂代數的增加而發生丟失，造成性能的不穩定。因此 Ymano 等人將外源的 α -乙醯乳酸脫羧酶基因整合入啤酒酵母的染色體中，從而建構了能穩定遺傳的基因轉殖啤酒酵母。

使用這種基因轉殖酵母釀製啤酒，也能明顯地降低啤酒中的雙乙醯含量，而且不會對啤酒釀造過程中的其他發酵性能造成不良影響。又例如，啤酒發酵生產是採用啤酒酵母，但由於啤酒酵母中不含有 α -澱粉酶，需要利用麥芽產生的 α -澱粉酶使穀物澱粉液化成糊精。

採用基因工程技術，將大麥中 α -澱粉酶基因轉入啤酒酵母中，並使之大量表現，可以建構能夠產生 α -澱粉酶的啤酒酵母，這種酵母可以利用澱粉進行發酵，縮短生產流程、簡化工作流程，以實現啤酒生產的革新。

乾啤酒具有純正、爽口、低熱量等特點，有益於人體健康，一九八七年首先在日本上市，並在歐美流行，其發酵生產特點是麥汁發酵度高達 75% 以上。生產中可以經由外加糖化酶或異澱粉酶的方法，提高麥汁可發酵性糖的發酵比例。現在已有研究人員採用基因工程技術探討高糖化酶啤酒酵母的建構，以期用於直接發酵生產。例如 Lancashirei 等人把 *S. occidentalis* 或 *S. diastaticus* 的糖化酶基因引入啤酒酵母中表現和分泌，發酵生產乾啤酒和淡色啤酒。

此外基因工程技術已可將黴菌的澱粉酶基因轉入 *E. coli*，並將此基因進一步轉入酵母單細胞中，使之直接利用澱粉發酵生產酒精，省掉了高壓蒸煮的過程，可節省約 60% 的能源，縮短了生產時間。

中央研究院植物研究所研發之甜甜米則是將澱粉酶基因轉入稻米中，使稻米用為發酵原料時不必蒸煮糖化，與此有異曲同工之處。

4. 乳製品

從全球的角度來看，發酵的乳製品占所有發酵食品的 10%。乳製品發酵主要是乳酸菌的作用。這些菌在奶製品中生產時，將乳糖轉變為乳酸，並形成許多風味特殊的物質，使得乳製品具有獨特風味，例如：酸奶、奶酪等。

(一) 乳製品發酵的乳酸菌

乳酸菌是一類以乳酸發酵為基本特徵的革蘭氏陽性菌群，包括乳酸桿菌 (*Lactobacillus*)、乳球菌 (*Lactococcus*)、鏈球菌 (*Streptococcus*)、片球菌 (*Pediococcus*) 和明串球菌 (*Leuconostoc*) 五個菌屬。這些細菌具有下列共同屬性：乳酸菌能在較低的 pH 值及厭氧條件下良好生長，其生長需要碳水化合物、胺基酸和維生素等多種營養成分；並能從吸收的碳水化合物中生產大量的乳酸，產乳酸量通常占發酵最終產物的 50% 以上；幾乎所有的乳酸菌菌株都是非致病性的。

乳酸菌在自然界中分布極廣，並且在人類生活中產生極其重要的作用。許多乳酸菌均可用於發酵牛奶、肉類、魚類以及植物，以生產乳酪、酸奶、黃油、香腸、醃魚、食醋、醬油和黃酒等食品。乳酸菌在發酵過程中，由於其發酵產酸降低 pH 值並消耗大量的營養成分，因此可以抑制其他微生物的污染，而且酸化反應也是奶酪、酸奶以及香腸生產中蛋白質凝固的必要條件。乳酸菌對人體健康的促進作用主要表現在下列幾個方面：(1) 提高食物中的營養價值；(2) 促進乳糖消化；(3) 抑制腸道病原菌群的繁殖；(4) 抗腫瘤；(5) 控制血清膽固醇含量等。

目前食用乳酸菌中對乳酪的主要生產菌—乳球菌的分子遺傳研究得最為詳盡，其基因操作的主要目的是穩定蛋白酶生產、提高乳糖利用率，以及生產菌的噬菌體抗性等。性能優異的乳球菌基因工程菌將在近期內參與食品生產。此外由於乳酸菌在酸奶和奶酪生產中的重要作用，有關基因操作的研究也獲得了很大的進展。

利用基因技術建構品質優良的食用乳酸桿菌工程菌具有巨大的潛在經濟價值和社會效益。食用乳酸桿菌基因工程改良的方向主要包括下列三個方面：(1) 提高生產菌在食品發酵過程中的穩定性。要求工程菌對噬菌體具有抗性、乳糖代謝和蛋白酶合成的基因能全程穩定表現，這在奶酪生產中極為重要，可以提高菌株的噬菌體抗性，並提高乳糖的利用率；(2) 改善發酵食品的品質。例如以控制蛋白酶基因的表現程度可以優化發酵乳製品的組成，提高其營養價值，在生產菌中導入某些天然香料的生物合成基因以及甜味蛋白或多肽基因，以改善產品的口味等；(3) 縮短生產時期。在詳盡了解乳酸桿菌代謝機制的前提下，重新設計乳糖發酵與其他細菌生長所必需的代謝途徑之間的物流控制，最大限度地提高生產菌的生長速度，同時阻止乳酸合成途徑或強化表現殺菌素合成途徑，以增加乳製品的保鮮期。

(二) 乳酸桿菌屬的載體轉型系統

將外源 DNA 導入乳酸桿菌細胞內的例行方法有以下幾種：

(1.) 細菌接合 (conjugation)：在乳酸桿菌屬的轉型系統建立之前，利用宿主轉移性質體 pAMβ1 和 pIP501 應用接合作用轉移 DNA 片段是普遍採用的方法。這兩種質體能在多數食用乳酸桿菌中複製，其中 pAMβ1 質體進入保加利亞乳酸桿菌和乳酸乳桿菌 (*L. lactis*) 後，還能整合在受體菌的染色體 DNA 上。

(2.) 噬菌體轉染 (transduction)：食用乳酸桿菌擁有許多宿主專一性的噬菌體，但用於大規模發酵的菌株大都具有噬菌體抗性或溶原免疫力。可以利用乳酸乳桿菌的噬菌體顆粒蛋白的重組表現，建構新型乳酸乳桿菌的基因轉殖載體。嗜酸乳酸桿菌中的噬菌體均為溫和型，在該菌種 ADH 株中分離出

的溶原噬菌體，這個噬菌體可以較低的頻率介導某些可轉導型質體，如果將噬菌體的有關 DNA 分段與轉導型質體 pGK12 重組，則重組質體的轉導效率大為提高。

(3.) 轉型 (transformation)：有關食用乳酸桿菌原生質體轉型成功的報導很少，主要原因是絕大多數的乳酸桿菌原生質體難以再生，因此質體轉型大都採用電擊法。保加利亞乳酸桿菌中含有一 79 kb 的隱蔽型質體 pBUL1，將 pAmpl 質體上的紅黴素抗性基因插入到 pBUL1 上，建構出的雜合質體 pX3，可採用電擊法有效轉型乳酸乳桿菌株。這個載體質體具有很大的實用性。pX3 用於表現外源基因也獲得成功，例如利用 DNA 重組技術改變，細菌乳酸發酵產物性質的第一個成功範例是將嗜熱鏈球菌 (*S. thermophilus*) 的 L-乳酸脫氫酶基因與 pX3 質體重組，並轉殖在 D-乳酸生產菌乳酸乳桿菌中，轉型子便能合成兩種乳酸對應體。在乳酸菌中，這是利用 DNA 重組技術改變細菌乳酸發酵產物性質的第一個成功範例。酪蛋白乳酸桿菌的電擊法質體轉型效率最高，達到 $10^3/\mu\text{g}$ DNA。由於食用乳酸桿菌對人類健康有著重要作用，它能夠抑制胃腸道致病菌的繁殖，並促進食物的消化和吸收。若將具有重要治療價值的人體蛋白或多肽基因 (例如：抗腫瘤因子、免疫調節因子、疫苗和抗體等) 轉殖在乳酸桿菌中，便有可能生產出易被腸道吸收的口服重組藥物。與重組大腸桿菌生產的藥物相比，乳酸桿菌的存在不僅有利於藥物的吸收而且生產的生物製品具有無須純化和無毒性等優勢。當然，如何提高藥物基因的表現量，以及增加異源蛋白在酸性環境中的穩定性，是從事這項工作必須克服的難關。

十、基因轉殖食品添加劑

許多食品生產中所應用的食品添加劑或加工助劑，例如：酶製劑、胺基酸、維生素、增稠劑、有機酸、乳化劑、表面活性劑、食用色素、食用香精及調味料等，都可以採用發酵生產而得到。理論上所有發酵食品與食品配料生產菌，都可以利用基因工程技術進行菌種改良，但是由於胺基酸、有機酸、維生素、色素、香料等均屬於微生物代謝的產物，其生產菌的改良牽涉基因較多且調控複雜，因此難以利用基因工程技術進行菌種的改良，目前大多還

處於研究階段，工業上僅有少數胺基酸及維生素是以基因轉殖微生物生產。而酶製劑的基因轉殖操作牽涉的基因較為單純，適合利用基因工程技術進行改良。

食品添加劑方面典型的應用如下：

(一) 酶製劑的生產

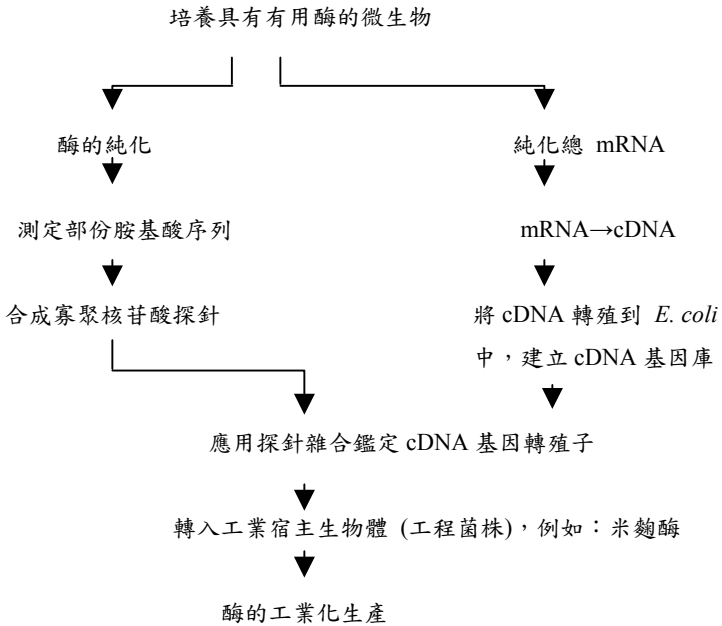
酶在食品工業的應用範圍十分廣泛。一九八四年全球的工業酶市場為三.七億美元，至一九九六年已達十四億美元，且銷售額每年以 4~5% 增加，至二〇〇五年預計可達十七至二十億美元。一九九六年全球約有近五百家酶製劑生產公司，其中有十二家大廠，所生產酶的種類及數量幾乎囊括全球酶市場，其餘大部分廠商僅生產某些酶。大約 60% 的酶製劑是由歐洲國家廠商生產，北美洲國家生產量約占 15%，日本占 12~15%。中國大陸一九九八年酶製劑的產量為二十二萬噸，銷售額超過六億人民幣，為歐美與日本外規模較大的酶生產地。目前酶製劑生產發展的主要方向是將生物技術應用於酶工程領域，生物酶工程主要包括三方面的內容：(1) 用基因工程技術大量生產酶；(2) 修飾酶基因，產生遺傳修飾；(3) 設計出新酶基因，合成新酶。重組 DNA 技術的建立，使人們在很大程度上擺脫了對天然酶的依賴，特別是當從天然材料獲得酶蛋白困難時，重組 DNA 技術更具優越性，基因轉殖各種天然的酶基因，使其在微生物中高效表現，並應用發酵進行大量生產。據估一九九五年工業用酶（包括食品與洗潔劑）已有基因轉殖微生物生產的。目前已有一百多種酶基因轉殖成功，主要有尿激酶基因、凝乳酶基因等。利用基因轉殖微生物生產酶是食品工業上除了基因轉殖作物外的另一個高度應用基因工程技術，且有商業化產品的領域。

酶基因轉殖及表現的大致步驟，如圖一所示。利用基因工程菌發酵生產的食品酶製劑，如表八所示。

1. 凝乳酶

利用基因轉殖微生物生產的食品用酶中凝乳酶 (chymosin) 具有廣大的市場，凝乳酶是第一個應用基因工程技術把小牛胃中的凝乳酶基因轉移至細菌或真核微生物生產的一種酶。

美國已有高達 70% 的乾酪是以基因轉殖微生物所生產的凝乳酶加工製造的。凝乳酶是生產乳酪的必需用酶，最早是從小牛第四胃的胃膜中萃取出來的一種凝乳物質。但是，由於受到動物供應的限制，凝乳酶的產量難以滿足市場的需求。凝乳酶的另一生產途徑是直接從微生物中萃取，但它在使用中常常會引起乳酪的苦味，使其在實際應用中受到限制。自二十世紀八〇年代以來，爲了緩和小牛凝乳酶供應不足的狀態，許多已開發國家紛紛展開了牛凝乳酶基因工程的研究。



圖一 酶基因的基因轉殖途徑。

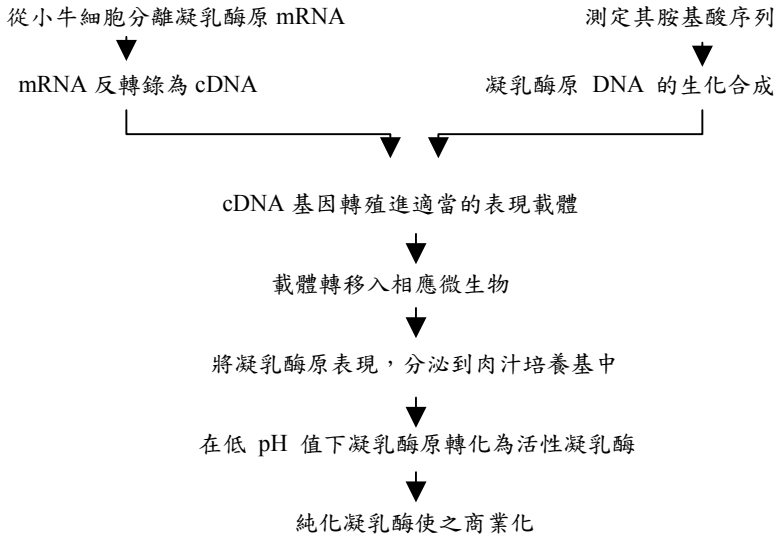
Nishimori 等人於一九八一年首次用 DNA 重組技術將凝乳酶原基因轉殖到 *E. coli* 中，並成功表現。隨後，凝乳酶原的 cDNA 被成功建構，並轉殖入 *E. coli*、酵母、絲狀真菌中並表現。基因轉殖凝乳酶成分單一，純度高（小牛胃萃取液僅含 70~90% 凝乳酶），作用時間容易把握，生產的乳酪在風味

上也與用從小牛胃中萃取的凝乳酶生產的乳酪相同。一九九〇年美國 FDA 已批准基因轉殖凝乳酶在乾酪生產中使用。由於生產凝乳酶的寄主基因工程菌不會殘留在最終產物上，符合 GRAS (generally recognized as safe) 標準，被認定是安全的，無須標示。

表八 基因工程菌發酵生產的食品酶製劑

酶名稱	基因供體	基因受體	用途
凝乳酶	Calf	<i>E. coli</i> , <i>Kluyveromyces lactis</i> , <i>Aspergillus awamori</i>	乳酪、乾酪生產
α -澱粉酶	<i>Bacillus</i> sp, <i>Aspergillus niger</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	釀造、澱粉修飾
葡萄糖氧化酶	<i>Aspergillus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	葡萄糖酸生產、食品保鮮
葡萄糖異構酶	<i>Arthrobacter</i>	<i>E. coli</i>	果糖糖漿生產
轉型酶	<i>A. niger</i> , <i>Kluyveromyces</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>Pichia pastoris</i>	轉型糖生產
普魯多醣酶 (茁黴多醣酶)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	澱粉脫支
脂肪酶	<i>Rhizopus miehei</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	特種脂肪生產
α -半乳糖苷酶	Guar (瓜爾豆)	<i>S. cerevisiae</i>	修飾食品膠
β -半乳糖苷酶	<i>Kluyveromyces lactis</i>	<i>S. cerevisiae</i>	乳清的利用、乳製品生產
α -乙酸乳酸脫羧酶	<i>Bacillus brevis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	啤酒釀造、縮短加工時間
溶菌酶	Chicken (雞) Cow (牛)	<i>S. cerevisiae</i> , <i>Pichia pastoris</i>	食品保存
鹼性蛋白酶	<i>A. oryzae</i>	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	大豆製品加工

利用基因工程菌生產凝乳酶不僅是解決凝乳酶供不應求的理想途徑，同時基因工程技術的應用還可以改善乾酪的生產方法、提高凝乳酶性能。基因工程菌生產牛凝乳酶的過程，如圖二所示。



圖二 基因工程菌生產牛凝乳酶示意圖。

重組 DNA 技術生產小牛凝乳酶，首先從小牛胃中分離出對凝乳酶原專一的 mRNA (內含子已被切除)，然後藉助反轉錄酶、DNA 聚合酶和 SI 核苷酸酶的作用獲得該酶原的基因序列，導入大腸桿菌中。由於所用的 mRNA 樣品依然含有各種 RNA 片段，因此所得到的 cDNA 選殖實際上是一個混合的 cDNA 基因庫，用放射性 mRNA 或 cDNA 探針進行雜合，可以挑選出含有專一性 cDNA 的基因轉殖菌株。所獲得的核苷酸序列基本與凝乳酶原的胺基酸序列相符合。為使外源基因在細菌中有效表現，在上游端還需插入適當轉錄啟動子序列，核糖體結合部位以及轉譯的起始位點 AUG。表現產物為一 N 端帶有一小段細菌肽鏈的融合蛋白，但這不影響隨後的酶原活化作用。在這一過程中該小肽鏈與酶原的 42 肽鏈一起被切除。用色胺酸啟動子可以獲得高效表現，問題是表現產物以不溶性的內涵體 (inclusion bodies) 的形式存在。因此，表現後的加工及基因的改造都是不可缺少的。

2. 耐熱 α -澱粉酶

耐熱 α -澱粉酶基因的基因轉殖和表現過程是：將萃取的嗜熱脂肪芽孢桿

菌全染色體 DNA，經限制酶切割成小片段，並與 pBR322 質體 DNA 重組，轉型大腸桿菌獲得芽孢桿菌基因組基因庫，從中選出目標基因，並將之選殖入芽孢桿菌表現載體，並轉型入芽孢桿菌中。

一九七九年，Nomura 等人報導了將遺傳工程方法應用於 α -澱粉酶生產菌的育種工作，將 *amyE* 基因轉殖到枯草芽孢桿菌中，得到的轉型株具有 α -澱粉酶活力。Palva 等人採用 pYB110 載體，將液化澱粉芽孢桿菌 (*B. amyloliquefaciens*) 的 α -澱粉酶基因轉殖到枯草芽孢桿菌中，獲得抗卡那黴素轉型株，其 α -澱粉酶活力比野生型原始菌株高五百倍。據推測，有效的 α -澱粉酶啟動子和質體拷貝數的增加，導致了這種酶高產性狀的出現。還有報導將耐熱的嗜熱脂肪芽孢桿菌 (*B. stearothermophilus*) 的基因轉殖到大腸桿菌 (*E. coli*) 中，爾後再轉到枯草芽孢桿菌中，獲得產 α -澱粉酶工程菌，已獲專利。最近，Henahan 分離純化地衣芽孢桿菌的高產 α -澱粉酶基因，並用限制性酶 *EcoRI* 降解 DNA，再將其基因轉殖到質體，再將其轉移到枯草桿菌 α -澱粉酶的突變株上，在含澱粉的培養基上以碘色反應檢測產酶菌落。枯草芽孢桿菌重組體的基因再同樣被引入生產菌株中，與原始重組株比較， α -澱粉酶產量提高了七至十倍，並且已經廣泛地應用在食品和釀酒工業上。

3. 耐熱 β -澱粉酶

Mizukami 等用基因工程方法將 *C. thermosulfurogenes* 的 β -澱粉酶基因，基因轉殖到 *B. brevis* 工程菌株中，獲得的工程菌培養溫度是 37°C，產酶能力在培養六天內持續增長，然後穩定在最高產酶水準。此工程菌可望用於耐熱 β -澱粉酶的工業生產。

4. 糖化酶

近年來，國外將 *A. niger* 糖化酶、*A. shirosamii* 糖化酶和 *Rhizopus* 糖化酶基因引入酵母中，並成功地得到表現。中國大陸對糖化酶的基因選殖、轉型、表現，也進行了系列研究。有報導顯示，從 *A. niger* 糖化酶高產菌株中選殖了糖化酶的 cDNA，並對其序列進行分析，隨後將合成的糖化酶 cDNA 的 5'、3'端改造，然後基因轉殖到酵母質體 YFD18 上，再將其轉型入釀酒

酵母中，能獲得有效分泌胞外糖化酶的工程菌。又有研究以噬菌體 λ gt10 DNA 為載體，建構黑麴黴 3758 的 cDNA 基因庫，以黑麴黴糖化酶基因的 DNA 序列為探針，從所建基因庫中篩選出葡萄糖澱粉酶（糖化酶）的 cDNA。基因轉殖的 cDNA 片段在表現載體 λ gt11 中得到了表現。另有報導將地衣芽孢桿菌 α -澱粉酶基因及黑麴黴糖化酶 cDNA，共同重組於大腸桿菌—酵母穿梭質體中，然後轉型釀酒酵母，受酵母 ML21 因子及磷酸甘油酸激酶基因的啓動子和終止信號控制，糖化酶以高水準表現，並能分泌到胞外，同時重組質體穩定性良好。

5. β -環狀糊精葡基轉移酶

β -環狀糊精可將多種有機物質包埋在分子內部，從而賦予這些物質以新的物理和化學性質，廣泛應用在醫藥、食品、化妝品等領域，具有良好的市場發展前景。但由於 β -環狀糊精葡基轉移酶 (β -CGT) 生產菌產酶活力低，故使 β -環狀糊精因生產成本高，而使其應用受到限制。復旦大學和上海市工業微生物研究所合作，首次在大陸應用染色體整合擴增技術，以嗜鹼性芽孢桿菌 N-272 作供體，基因轉殖了 β -CGT 基因，成功地建構了大量表現 β -CGT 的基因工程菌 BS16-7。振盪試驗酶活力最高達 8900 U/mL。

6. 葡聚糖酶

把細菌熱穩定 β -葡聚糖酶基因的密碼子修改成相當於大麥葡聚糖酶 EII 同功酶基因中所使用的密碼子後，在大麥 α -澱粉酶啓動子的控制下，這種修改後的細菌基因在基因轉殖大麥中表現出一種熱穩定性的葡聚糖酶，從而提高釀酒的發酵效率。

7. 其他酶製劑

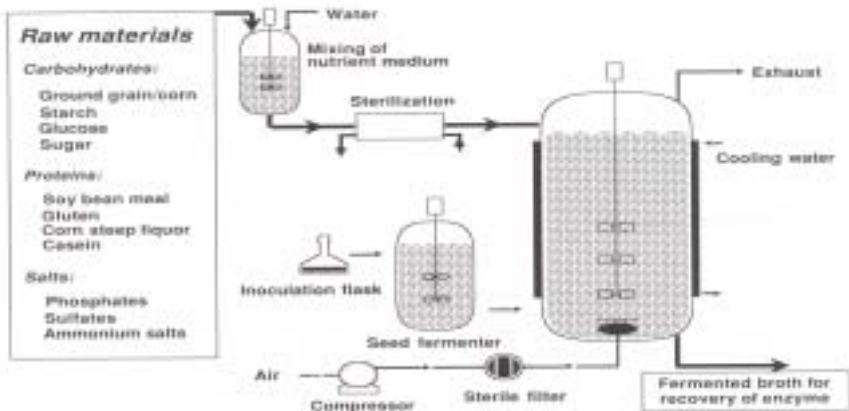
採用基因工程手段改良產酶菌株，近年來，還應用於超氧化物歧化酶 (SOD)。Hallewell 等人報導了人類的 Cu/Zn-SOD 的 cDNA 的核苷酸序列、分子基因轉殖和用 *tacE* 啓動子，使其在大腸桿菌中大量表現。利用酵母甘油醛磷酸脫氫酶啓動子控制人類的 SOD 基因在酵母菌中大量表現，產

生的 Cu/Zn-SOD 是可溶的，酶活性正常，並且對銅、鋅表現出低濃度的抗性。酵母產生的人的 SOD 與人血紅細胞的 Cu/Zn-SOD 物化特性相同。然而，細菌中表現產生的 SOD 和酵母菌自身的 Cu/Zn-SOD 都不能乙醯化，可見用酵母表現生產的 SOD 是很有應用前景的。Brehm 等人將 *B. stearothermophilus* 的 Mn-SOD 基因轉殖入大腸桿菌中，並測定了其完整胺基酸序列。重組體 Mn-SOD 在大腸桿菌中大量表現，產生的 SOD 占可溶性蛋白的 49%。Chembers 等人將 *B. caldotenax* 的 Mn-SOD 基因轉殖到大腸桿菌中，並獲得大量表現，產生的 SOD 占可溶性蛋白的 40%。

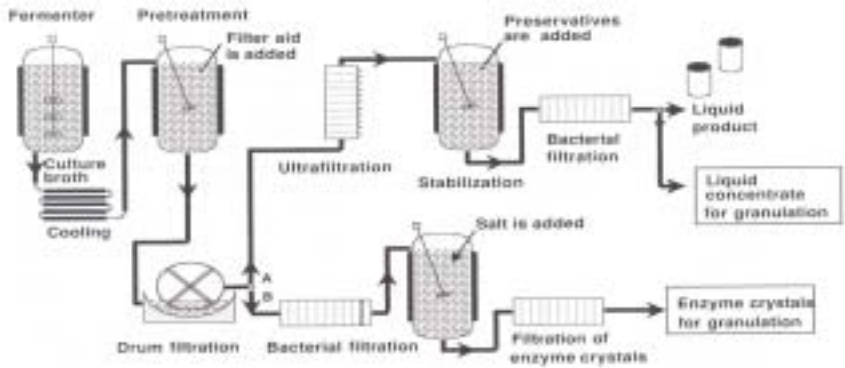
另外，還有報導基因工程應用於生產高果糖糖漿的葡萄糖異構酶的基因轉殖入大腸桿菌中後，獲得比原菌高數倍的酶產率。

酶為食品加工之重要助劑，利用基因轉殖微生物生產酶有許多優點，例如：產量高、品質均一、穩定性佳、價格低廉等，因此以基因轉殖微生物為生產工具生產工業用（含食品加工用）酶具有很好的發展前景。目前，利用基因工程技術開發食品用酶的目的在於生產具有優於現有酶加工特性，且對產品的感官屬性影響不大的酶，但是隨著蛋白質工程技術的日新月異，開發出穩定性、特异性與催化效率更佳的酶，將是今後的研究焦點。

各種基因改造微生物生產酶之回收方法如圖三及圖四所示。



圖三 典型應用微生物生產酶之流程圖。



圖四 由發酵液回收酶之流程圖。

(二) 胺基酸

蛋白質的組成成分—胺基酸，在食品工業中具有廣泛的用途 (表九)，可以用作助鮮劑 (味精)、抗氧化劑和營養補充劑。目前，全世界每年的胺基酸產量超過五十萬噸，年銷售額三十多億美元，其中麩胺酸的產量占胺基酸總產量的一半以上。

表九 胺基酸在食品工業中的用途

丙胺酸 (Ala)	增鮮劑
天門冬胺酸 (Asp)	增鮮劑、增甜劑
半胱胺酸 (Cys)	生產麵包、抗氧化劑
麩胺酸 (Glu)	增鮮劑
甘胺酸 (Gly)	增甜劑
組胺酸 (His)	抗氧化劑
離胺酸 (Lys)	食品添加劑
苯丙胺酸 (Phe)	增甜劑

胺基酸的大規模工業化生產，主要有蛋白質降解和微生物發酵兩種方法。用於大規模發酵生產胺基酸的高產菌株一般是由以下兩種方法獲得：

(1) 利用傳統誘變技術改良棒狀細菌的野生株，這種方法雖然隨機性很大，但依靠簡便靈敏的篩選模型，可從野生菌中分離出大量高產突變株，其中相當多的突變株目前仍在發酵工業中廣泛應用。

(2) 利用 DNA 重組技術建構高產工程菌，相對傳統誘變技術而言，其優點是：第一，能特異性地高效表現胺基酸生物合成途徑中的限速步驟控制基因；第二，能將胺基酸的生物合成控制在細菌的最佳生長階段；第三，能將棒狀桿菌有效的胺基酸生物合成和分泌系統移殖到易於培養控制且生長迅速的其他細菌（如大腸桿菌）中。

目前，胺基酸工程菌的建構方面的研究主要集中在以下三方面：

(1) 藉助於基因轉殖與表現技術，將胺基酸生物合成途徑中的限速基因導入生產菌中，應用增加基因劑量或更換表現調控元件，強化其在受體菌中的表現。導入的限速酶基因既可以是生產菌自身的內源基因，也可以是來自非生產菌（如大腸桿菌）的外源基因。

(2) 採取類似的方法，強化表現胺基酸輸出系統的關鍵基因，或者降低某些基因產物的表現速率，最大限度地解除胺基酸及其生物合成中間產物對其生物合成途徑，可能造成的反饋抑制。

(3) 將一種完整的胺基酸生物合成操縱子導入另一種胺基酸的生產菌中，建構能同時合成兩種甚至多種胺基酸的工程菌。

進行的上述研究首先是進行有關基因的基因選殖，生物合成基因的基因選殖大都採用與突變株互補的方法，例如，在大腸桿菌的營養缺陷型突變株中建構麩胺酸棒狀桿菌的基因庫，然後以遺傳互補正向篩選，即可選殖相關基因利用這種方法成功地分離了色胺酸、離胺酸、異亮胺酸和蘇胺酸的生物合成基因。此外，也可將麩胺酸棒狀桿菌的胺基酸生物合成基因直接選殖在自身的營養突變株中，苯丙胺酸的幾個生物合成基因就是用這種方法直接選殖的。與其他多種革蘭氏陽性菌不同，麩胺酸棒狀桿菌能夠識別包括革蘭氏

陰性菌在內的許多原核細菌的外源基因表現調控元件，大量的外源基因在這種細菌中可獲得高效表現，而且麩胺酸棒狀桿菌的胺基酸生物合成基因順序組織，也與大腸桿菌等革蘭氏陰性菌具有顯著的相似性，這為高產胺基酸的基因工程菌建構創造了有利條件。

1. 蘇胺酸

世界上第一個胺基酸的基因工程菌是產蘇胺酸的重組大腸桿菌，其建構於一九八〇年完成，隨後又對該工程菌進一步改造，使其蘇胺酸產量高達 86.4 g/L。與此同時，高產蘇胺酸的棒狀桿菌基因工程菌的建構也獲得成功，產率達到 33 g/L 以上。

2. 異亮胺酸

麩胺酸棒狀桿菌蘇胺酸脫水酶基因的基因選殖及定序已經完成，藉助於定點突變技術將該酶的變構功能域轉變為抗反饋抑制的序列。例如，將該酶基因的第 323 位密碼子由 Val 轉變為 Ala，L-異亮胺酸對突變酶的反饋抑制全部解除，使其始終處於活性狀態。若將這個突變基因導入 L-蘇胺酸生產菌中，並使之過量表現抗反饋抑制的蘇胺酸脫水酶則工程菌的蘇胺酸合成系統轉換成 L-異亮胺酸的合成系統，培養液中的 L-異亮胺酸濃度可達到 20 g/L。

3. 芳香族胺基酸

芳香族胺基酸如色胺酸、苯丙胺酸和酪胺酸具有共同的生物合成途徑，催化這一途徑的三個酶是脫氫奎尼酸合成酶、莽草酸磷酸激酶以及莽草酸脫氫酶，含有上述三種酶基因 *aroL*、*aroB* 和 *aroE* 的 DNA 片段，已被選殖並定序。將含有該片段的重組質體轉入合適的棒狀細菌中，脫氫奎尼酸合成酶和莽草酸磷酸激酶的活性比受體菌分別提高十二倍和三倍。在大腸桿菌和枯草桿菌中，上述三個基因並非連鎖，因此從棒狀細菌染色體 DNA 上轉殖這些基因相對比較簡單。

含有上述三個基因的重組質體轉入乳酸短棒桿菌的一個突變株，可使其 L-色胺酸的產率從 1.6 g/L 提高到 4.2 g/L。將只含有 *aroL* 基因的重組質體

轉型株一株產酪胺酸的乳酸短棒桿菌突變株，其 L-酪胺酸的產率從 17.4 g/L 提高到 21.6 g/L；而在另一株類似的菌株中，重組質體在將 L-酪胺酸產量自 6.8 g/L 增至 21.6 g/L 的同時，又使 L-苯丙胺酸的產量從 5.5 g/L 提高到 6.9 g/L。此外 3-脫氧-D-阿拉伯庚酮酸-7-磷酸合成酶基因的基因轉殖與表現也在某種程度上有利於 L-苯丙胺酸和 L-酪胺酸的生物合成，例如將含有上述基因的重組質體 pAR1 導入一株鄰胺基苯甲酸的生產菌中，相應的酶活性提高了十五倍，同時使 L-苯丙胺酸和 L-酪胺酸的積累濃度分別達到 4.4 g/L 和 4.9 g/L。

(1) 色胺酸工程菌的建構：建構的重組質體重新導入產色胺酸的乳酸短棒桿菌中，重組菌的 L-色胺酸產量從 1.6 g/L 提高到 7.5 g/L，而其 L-苯丙胺酸的產量則由原來的 6.8 g/L 下降至 1.4 g/L。

(2) 苯丙胺酸工程菌的建構：選殖在 pAJ1844 質體上，建構出重組質體 pPH14，它能使受體菌量的預苯酸脫水酶活性提高十五倍，同時使 L-苯丙胺酸的產量從 4.2 g/L 提高到 11.8 g/L。將含有 3-脫氧-D-阿拉伯庚酮酸-7-磷酸合成酶基因的重組質體 PAR1 的載體部分更換成 pAJ224，形成 pAR16，則攜帶兩個相容性重組質體 pPH14 和 pAR16 的重組乳酸短棒桿菌，可將 L-苯丙胺酸的產量進一步提升到 18.2 g/L。

將選殖在合適的載體質體上並轉型相應的麩胺酸棒狀桿菌受體菌，重組菌的分支酸變位酶活性增加十二倍，L-苯丙胺酸的產量由 13 g/L 提高到 19 g/L。

(3) 離胺酸工程菌的建構：離胺酸的工業化生產規模僅次於麩胺酸，目前利用麩胺酸棒狀桿菌的工程菌發酵生產 L-離胺酸，其產率已接近 100 g/L，即每 100 g 蔗糖可轉變為 34 g L-離胺酸，然而其中能直接分泌到培養基中的發酵產物僅占總產量的 10%，大部分合成的離胺酸存在於細胞內。

(三) 甜味劑

基因轉殖的方法可用於提高糖的含量，提高產品的品味。高等植物中，6-磷酸蔗糖合成酶將 UDPG-葡萄糖轉變為 6-磷酸蔗糖（即蔗糖的直接前驅

物)。將玉米磷酸-蔗糖合成酶基因轉入番茄葉中表現，該酶增加一倍，基因轉殖植物中澱粉含量降低而蔗糖含量提高一倍。由於 1,6-二磷酸果糖在細胞中轉變成 6-磷酸果糖，同時產生焦磷酸 (PPi)，Sonnewald 將 *E. coli* 的無機焦磷酸酶基因轉入馬鈴薯和菸草中，降低細胞液中 PPi 的濃度，改變反應平衡使反應趨向於 1,6-二磷酸果糖，並最終合成蔗糖，提高了基因轉殖植物中糖與澱粉的比例。

低熱量食品的關鍵成分是低熱量或無熱量甜味劑，對某些需要限制攝入熱量的人 (例如：肥胖者、糖尿病人)，甜蛋白正是作為低熱量甜味劑的潛在候選者。阿斯巴甜比蔗糖甜一百八十倍，目前是市場上最成功的二肽甜味劑，但存在熱不穩定和對酸敏感問題。除了非熱量 (如果聚糖) 外，修飾植物產物甜味、同時不產生熱量的另一種方法是在植物體內表現甜蛋白。目前，已有四種植物甜蛋白的研究獲得較好的結果，包括應樂果甜蛋白 (monellin)、奇異果甜蛋白 (thaumatin)、馬檳榔甜蛋白 (mabinlin) 和 brazzein (見表十)。由於它們的甜度極高，只需少量蛋白即可，因此產生很少的熱量。在生物工程應用領域，甜蛋白基因能以發酵方法或其他生物反應器用來大量生產甜味劑，廣泛應用於食品、釀造及飼料添加劑等行業。同時，這種基因也可應用於培育基因轉殖水果、蔬菜及其他植物品種中以改良其品味。

表十 植物甜蛋白

蛋白	植物	甜度 (對比蔗糖)	特性
應樂果甜蛋白	<i>Diosconophyllum cumminsii</i>	1500	10.7 kD; 兩條鏈, 50+45 個胺基酸殘基; 熱敏感
奇異果甜蛋白	<i>Thaumatococcus daniellii</i>	2000	22 kD; 207 個胺基酸殘基; 熱敏感
馬檳榔甜蛋白	<i>Capparis masaikai</i>	400	14 kD; 兩條鏈, 33+72 個胺基酸殘基; 熱敏感
Brazzein	<i>Pentadiplandra brazzeana</i>	2000	6 kD; 52 個胺基酸殘基; 熱穩定

Thaumatococcus 和 monellin 要比蔗糖甜一千五百倍以上。不過，這兩種蛋白在 45~65°C 時會失去甜度，這是作為低熱量甜味劑用於需熱加工的食品和釀造行業的一大缺陷。而 brazzein 尤其是 mabinlin 熱穩定很好，brazzein 被加熱四小時不被破壞，mabinlin 在 80°C 加熱四十八小時仍能保留其甜度，因此其有更大的實用價值。莫內林是一種西非灌木植物合成的甜味蛋白，甜度為蔗糖的十萬倍，整個分子由非共價鍵相連的 A 鏈和 B 鏈組成，兩條鏈分開後甜味消失，因此作為食品添加劑使用受到很大限制。目前根據 AB 兩條鏈的胺基酸殘基序列人工合成一個融合基因，轉殖入番茄和生菜中已獲得表現。

另外把一種西非竹芋科植物果實中的甜蛋白（索馬甜）的基因整合入馬鈴薯中，在基因轉殖馬鈴薯的根、莖葉中都有該整合基因的表現，基因轉殖馬鈴薯甜味增加。

(四) 香料

香料傳統上是化學合成、萃取、反應、發酵等方法生產。目前，消費者趨向於使用或購買含有天然而非人造香料的產品，從天然芳香植物中萃取的香料受到人們的青睞。然而，天然香料的萃取成本昂貴、產率低，因此，以生物技術生產也逐漸成為香料開發的主流。香料屬於微生物的代謝產物，生物技術生產天然香料除可以採用微生物發酵生產外，亦可以酶或微生物轉換方式生產。因此，利用基因工程技術配合代謝工程改良生產菌生產天然香料，具有獨特的優勢。

十一、基因轉殖保健食品與藥物

採用基因轉殖技術，在動植物或其細胞中進行基因表現，並製造有益於人類健康的保健成分或有效因子。例如，將一種有助於心臟病患者血液凝結溶血作用的酶基因轉殖至牛或羊中，使牛乳或羊乳中產生這種酶，人們飲用此類基因轉殖動物的奶，即可達到治療疾病的目的；把人類的血紅素基因轉

殖至豬中，將豬血用做人類血液的代用品。因此，攜帶不同目標基因的基因轉殖動植物即成爲人類治療各種疑難雜症，諸如：病毒感染、心腦血管疾病、遺傳性血友病、B 型肝炎、癌症等資源豐富的「藥庫」。由此提煉出的各種藥用蛋白，具有成本低、生物活性高、不傳染其他病毒、「生產」過程中不污染環境等特點。

以基因重組技術生產蛋白質藥物可說是近年來相當熱門的藥物生產方式，包括基因重組微生物發酵與基因重組哺乳動物細胞培養。未來預期由基因轉殖動物、植物來生產蛋白質藥物。估計五年內，以基因重組技術所生產蛋白質藥物產量，平均年成長率約爲 41%。尤以基因重組微生物發酵所生產血清，取代來自天然血漿萃取的方法成長最迅速（表十一）。就長期趨勢觀察，在藥物安全性及大量生產考量上，以基因工程方法取代天然萃取法應是必然趨勢。

表十一 全球蛋白質藥物產量

製造技術	1999 年		2004 年		1999-2004 年平均成 長率
	產量 (kg)	百分比(%)	產量 (kg)	百分比 (%)	
一般生物方法	1,047,617	99.9	1,146,936	99.4	1.8
生物萃取	637,839	60.9	709,116	61.8	2.1
微生物發酵	409,769	39.1	437,809	38.2	1.3
動物細胞	9	ne	11	ne	3.7
基因工程方法	1,172	0.1	6,557	0.6	41.1
微生物發酵	865	73.8	5,924	90.4	46.9
動物細胞	307	26.2	545	8.3	12.1
轉殖動物	0	0	88	1.3	> 100
轉殖植物	0	0	0	0	0
化學合成方法	69	ne	80	ne	3.0
總計	1,048,858	100.0	1,153,573	100.0	1.9

資料來源：生物技術開發中心 IT IS 計畫整理

十二、基因轉殖特殊食品—植物免疫食品

用基因轉殖植物生產基因工程疫苗—食品疫苗，可是當前食品生物技術研究的焦點之一。食品疫苗就是將某些致病微生物的有關蛋白質（抗原）基因，應用基因轉殖技術導入某些植物受體細胞中，並使其在受體植物細胞中得以表現，從而使受體植物成爲具有抵抗相關疾病的疫苗。用基因轉殖植物生產的疫苗保持了重組蛋白的理化特徵和生物活性，可直接食用，也可純化後做疫苗使用。例如，口服不耐熱腸毒素基因轉殖馬鈴薯後，即可產生相對應抗體。位於紐約的 Boyce Thompson 植物研究所正致力於利用香蕉生產腹瀉和 Norwalk 病毒疫苗的研究。目前，此領域已獲成功的還有狂犬病病毒、B 肝表面抗原、鏈球菌突變株表面蛋白等十多種基因轉殖馬鈴薯、香蕉、番茄的食用疫苗。

由於這些重組蛋白基因可以長期地存於基因轉殖植物的種子中，有利於疫苗的保存、生產、運輸和推廣。因此，基因轉殖植物作爲廉價的疫苗生產系統，雖然才剛剛起步，卻具有很好的發展潛力。

此外，基因轉殖技術還可以用於食品加工技術的改進。例如，在啤酒製造中對大麥醇溶蛋白含量有一定要求，如果大麥中醇溶蛋白含量過高會影響發酵，使啤酒易產生渾濁，也會增加過濾的難度；另外，採用基因工程技術改良小麥中麥谷蛋白與麥醇溶蛋白的含量比值，以提高其烘焙性能的研究，也獲得了一定的成果。

在牛乳加工中，如何提高其熱穩定性是關鍵問題。牛乳中的酪蛋白分子含有絲胺酸磷酸，它能結合鈣離子而使酪蛋白沉澱。目前，可以採用基因操作，增加 κ -酪蛋白基因的拷貝數和置換 κ -酪蛋白分子中 Ala-53 爲絲胺酸，便可提高其磷酸化，使 κ -酪蛋白分子間斥力增加，以提高牛乳的熱穩定性，這對防止消毒乳沉澱和煉乳凝結非常重要。

十三、參考文獻

1. Diaz-Bonilla, E. and Robinson, S. 2001. Biotechnology, trade and hunger, in IFPRI 2000-2001 Annual Report. International Food Policy Research Institute.
2. ISAAA. 2003. Global Status of Commercialized Transgenic Crops: 2003. ISAAA.
3. Randell, A. 2001. International Consensus-Building on Biotechnology and Food safety: The Work of the Codex Alimentarius Commission, Paper presented at the New Biotechnology Foods and Crops: Science, Safety and Society Bangkok Conference, July 10–12, 2001.
4. Serageldin, I. and Persley, G. J. 2000. Promethean Science: Agricultural Biotechnology, the Environment and the Poor. CGIAR.
5. Internet 2003. <http://www.doh.gov.tw/english/food/biotech/Guidance.htm>
6. Internet 2003. <http://www.doh.gov.tw/english/food/biotech/Biotechnology.htm>
7. 潘子明 食品生物技術 p. 178, 藝軒圖書出版社 台北。