

# 淺談植物基因轉移技術

●李淑真<sup>1</sup>、廖芳心<sup>2</sup>

## 前言

傳統作物育種常使用雜交技術經由生殖過程轉移欲改良之基因，若此等基因存在於同屬或不同屬之物種，雜交不易成功。但現代分子層次之基因轉移技術(gene transfer technology)，因基因轉移無需經由生殖過程，可克服傳統雜交技術的瓶頸，將野生種、近緣種或不同屬、科，甚至是動物或微生物中有用的基因導入栽培種中，發展新品種。

## 植物基因轉移技術(plant gene transfer technology)

植物基因轉移技術，是將外源基因(DNA片段)導入植物細胞的一種技術。目前已發展有十餘種方法，大致可分為直接轉移法與間接轉移法。直接轉移法，是直接將外源基因送入植物細胞內。間接轉移法是利用載體(vector)將外源基因導入植物細胞內。茲將常見的方法略述如下：

### 一、直接轉移法

#### (一) 電穿孔法(electroporation)

將外源基因與原生質體一起培養，置於高電壓，低電容之高電場下電擊，在微秒的時間內，電流導致細胞膜上產生極小的孔隙，使外源基因進入原生質體內，再由組織培養培育出轉移植株。其優點是可

同時轉移多個基因。缺點是大多數植物原生質體不易進行分化。

#### (二) PEG法(polyethylene glycol)

於1982年Krens 等人最早研發成功。PEG是一種極度親水性分子，能吸溶液中的自由水，常被應用於植物細胞滲透壓的改變，而應用於原生質體融合時，是一種融合促進劑(fusogen)。當原生質體與外源基因一起置入PEG溶液內，外源基因會進入原生質體內，之後再取出原生質體進行培養，培育出轉移植株。此法的優點是不需昂貴的設備與儀器。

#### (三) 微注射法(microinjection)

在高倍顯微鏡下，利用微米大小的玻璃管，將外源基因直接注射到細胞中，甚至是細胞核內，以達轉移之目的。優點是轉移的對象不受限制，轉移率高；可人為控制注射的DNA量且直接注射到細胞內。缺點是操作技術高。

#### (四) 基因槍法(gene gun)

又名粒子槍法、粒子衝擊法或生物彈導法，於1984年由康乃爾大學的Sanford 教授等人發展出來。此法發展迅速，包括有實驗室用的Biolistic型與攜帶用Helios型的設備。利用金或鎢的金屬微粒子包覆外源基因，經由引爆火藥、空氣或氮氣壓力等產生推力，直接將此微粒子打入植物細胞中，達到轉移之目的。此法的優點不受作物種類與品種之限制，可處理的材料範圍

廣，包括花粉粒、胚、分生組織、原生質體和癒合組織等具細胞全能性的組織，是基因轉移法中限制最少的方法。缺點是需昂貴的設備與儀器。

#### (五)花粉管路徑法(pollen tube pathway)

此法於1983年由上海中國科學院生化研究所周光宇女士建立。方法是直接將外源基因以針筒注射授粉後的子房(圖一)，或滴在剪去花柱的切口，藉由授粉產生花粉管，將外源基因經由花粉管帶入受精卵中，而達到轉移外源基因的目的。此法的優點是不需昂貴的設備與儀器，操作簡單且不需經由組織培養，即可獲得轉移的植株。



▲百合花粉管路徑法

## 二、間接轉移法－農桿菌媒介法

### (Agrobacterium-mediated method)

農桿菌(*Agrobacterium* spp.)是土壤中常見的植物病原菌，可分為誘發植物產生冠狀腫瘤的農桿腫瘤菌及引起毛狀腫瘤的農桿根群菌。當農桿菌感染植物後，農桿腫瘤菌的Ti質體(Ti-plasmid)或農桿根群菌的Ri質體(Ri-plasmid)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。因此以Ti質體或Ri質體為媒介當做載體，進行基因轉移工作。將外源基因、抗生素基因及篩選之標誌基因(GUS基因或螢光基因)等一起嵌入Ti質體或Ri質體，再以此修飾過的質體送進農桿菌細胞內，以此農桿菌與原生質體、癒合組織、莖段或葉片等共培養數天，當其感染植物細胞時，質體上的一段DNA會轉移進入植物細胞，並嵌入植物細胞染色體中。共培養後在培養基中加入使農桿菌致死的抗生素，之後以篩選轉移植物細胞的標誌基因，篩選成活的轉移細胞，再經由組織培養培育出完整植株。此法的優點是轉移成功率高且穩定性佳。缺點是單子葉植物較不易感染且轉移DNA長度受載體大小限制。

## 結語

二十一世紀是生技的時代，基因轉移技術廣泛的被應用於植物育種上。目前已有不少商業生產之轉基因作物，諸如玉米、大豆、棉花、油菜、煙草、馬鈴薯、木瓜等，其轉移之基因主要有抗殺草劑、抗病蟲害、抗逆境、延緩老化、特用油等。目的在使作物的栽培省工化，減少病蟲害的防治，增加產品的櫥架壽命及提高產品品質與附加價值。 ■