

漫談基因改造作物之檢測技術

作者：王啟正 助理研究員
作物改良課
園藝研究室

電話：(03)8521108 轉 300

前言

所謂基因改造生物 (GMO)，就是將原有的物種及其近緣種沒有的基因，利用分子生物學的方式，將基因轉入此生物體中，使生物表現原來沒有的特殊性狀，如此產生的生物就是基因改造生物，若此生物為農作物或植物即稱為基因改造作物或植物。

基因改造的主要目的是為了抗病蟲害、抗逆境、增加營養成分、增加貯運壽命、耐除草劑等，例如轉殖蘇力菌蛋白基因的棉花和玉米可以抗螟蟲，以減少農藥成本及農藥殘留問題；耐除草劑的大豆在美國等大規模噴除草劑的國家可以節省人工除草的成本。

雖然基因改造作物有許多優點，在安全方面也經過嚴密的審查和科學驗證才可以上市，但是許多人仍對其有許多疑慮，因此為了讓消費者有選擇權，我國農委會制訂的植物品種及種苗法第五十二條規定基因轉殖植物非經中央主管機關許可，不得輸入或輸出。其中第四項：基因轉殖植物基於食品及環境安全之考量，其輸入、輸出、運送、推廣或銷售，皆應加以適當之標示及包裝。五十四條規定犯法規者處以新臺幣一百萬元以上五百萬元以下罰鍰。而當基因改造作物作為食品時，衛生署也依據食品衛生管理法，在民國九十年公告含有基因改造生物之食品必須加以標示。

政府為了保護消費者及農民的權益，農產品從田間種植或國外進口到上市，除了訂定嚴格的管理辦法之外，必須配合快速準確的基因改造農產品檢測技術，才能在第一時間把關，並掌握基改產品之流向。

基因改造作物之檢測方式

基因改造作物由於轉入了外來基因，其染色體 DNA 中擁有與其他同種作物不同的片段，而此基因表現 (expression) 所合成的蛋白質亦有所不同，這些蛋白質的產生就會造成如前言所述的抗逆境、抗蟲的性狀。所以可以從外表性狀的改變，或檢驗是否有異於原物種的蛋白質表現及 DNA 片段，來判斷是不是基因改造作物，所以檢驗基因改造作物的方式有三個層次，即 DNA 層次、蛋白質層次與表現型層次。一般以肉眼觀察其外觀表現型來判定其是否為基因改造作物並不準確，所以目前基因改造作物之檢測方式還是以檢測蛋白質及 DNA 為主要的方式。

檢驗蛋白質的方法很多，如酵素連結免疫分析 (enzyme-link immunosorbent assay，簡稱 ELISA)、SDS 膠片電泳 (SDS gel electrophoresis)、西方點漬法 (Western blot) 以及免疫沉降法 (immunoprecipitation) 等，目前以 ELISA 的方式為主要的檢驗方法。

檢驗基因或 DNA 的方法有聚合酵素鏈反應 (polymerase chain reaction，簡稱 PCR)、南方點漬法 (Southern blot)、探針雜交 (probe hybridization) 或限制酵素片段長度多型性 (restriction enzyme fragment length polymorphism) 等，其中的 PCR 為目前主要的檢驗方式。

ELISA 偵測的原理及方式

動物在外來物質入侵時，體內會產生抗體與外來物質結合以便保護自己，所產生的抗體依入侵的物質不同而有所不同，所以抗體具有辨認某特殊物質之專一性，ELISA 的原理就是利用這種專一性的免疫反應，將植物中基因改造的蛋白質純化後，打入動物體內，使動物產生抗體，科學家便可將此抗體抽出來加以純化，此抗體可以辨認基因改造植物產生的蛋白質。

在 ELISA 偵測時，先將植物抽出來的蛋白質固定在特殊的盤子上（圖一），這個盤子有 96 個孔穴，所以除了空白組及對照組 2 到 8 個樣本以外至少可以加 88 個樣本。接下來加入從動物中純化的抗體，此抗體便會跟基因改造的蛋白質結合，如果不是基因改造的植物蛋白就不會結合，就會被洗去。此時再加入另一個與酵素結合並且對此抗體有專一性之二次抗體（或稱酵素連結抗體，enzyme-labeled antibody），然後加入酵素的受質（substrate），經過一段時間的作用，酵素會催化受質反應而呈現顏色或產生螢光，這些步驟都會加入清洗的程序，沒有結合的抗體會被洗去，因此最後在該孔穴中若有呈色或螢光，即表示加入該孔穴的樣本有基因改造的蛋白質存在，亦即該作物含有基因改造成分。



▲圖一 ELISA 專用之微量盤

PCR 偵測的原理及方式

PCR 是一種使特定 DNA 片段大量增殖複製的技術。首先，先設計及合成一對長度通常在 20 個鹼基對左右的 DNA 片段，此 DNA 片段具有對某特殊轉殖基因的專一性，可以跟轉殖基因結合，此設計的片段稱為引子（primers）。

在進行 PCR 檢測時，先抽取作物的 DNA，加入 DNA 複製所需要的聚合酵素、引子及原料，放入 PCR 機器中（圖二），此機器的加熱磚可以控制溫度，經過若干個溫度循環，每一循環經過三個步驟，即變性（denature）、鍊合（annealing）、延展（extension），當檢測之 DNA 經過高溫 93-95 變性後，雙股會被打開，再降到引子的鍊合溫度，引子便會與 DNA 相互結合，在 70 至 72 時，聚合酵素會結合在引子與 DNA 結合處，並利用所加入的 DNA 原料複製成新的 DNA 片段，第一個循環便製造兩倍量的此特殊 DNA 片段，因此隨著循環數增加，該外來轉殖基因特定 DNA 片段的數量以二的倍數增加，經過 30-35 個循環後，便有 2 的 30-35 次方倍的 DNA 片段，由於 DNA 複製量很多，可經特殊染劑結合電泳後，在紫外光照射下，以肉眼就可見此特殊條帶。此條帶可回收後定序，確定序列是否為基因改造序列。

如果 PCR 的結果可以獲得該片段的複製產物，即代表作物含有欲檢驗的基因改造成份；如果沒有複製產物，或複製產物與預設的不相同，則代表檢體不含欲檢驗的基因改造成份。

結語

全世界基因改造作物栽培面積在 2005 年已經達到 8991 萬公頃，面積比 2004 年增加 11%，共計有二十一個國家核准栽培基因改造作物，以美國、巴西及阿根廷栽培面積最大，作物種類以大豆、玉米、棉花最多，我國內研發的抗木瓜輪點毒素病之基因改造木瓜也通過了

田間試驗，且我國已經允許基因改造大豆及玉米進口及上市。



▲圖二 PCR 機器，上方的金色方形金屬即為樣本管置入之處，可以控制溫度

為了尊重消費者的選擇權，避免農民不知情買到基因改造種苗，使基改產品流入市面，因此要研發基因改造作物產品的檢測技術，加強抽檢流程、落實抽檢制度。農委會已經結合各區農業研究單位，開發了基因改造木瓜檢測技術，去年起由種苗繁殖改良場製作盲樣分送各改良場檢測，本場不但通過了盲樣檢定，而且檢定效率高，連含百分之一的基改木瓜葉片粉末都可以偵測出來，同時本場也設計了一些引子，可以使 PCR 檢測效率增加。在技術建立之後，今年農委會開始著手種苗商的抽檢工作，有了如此高效率的檢測技術，相信在未來檢測工作上更能得心應手，進一步可以使種苗商按照規定繁殖種苗，以保護農民及消費者的權益。