

知識天地

窺探蘭花奧秘-病毒載體的利用

葉信宏副研究員（農業生物科技研究中心）

摘要

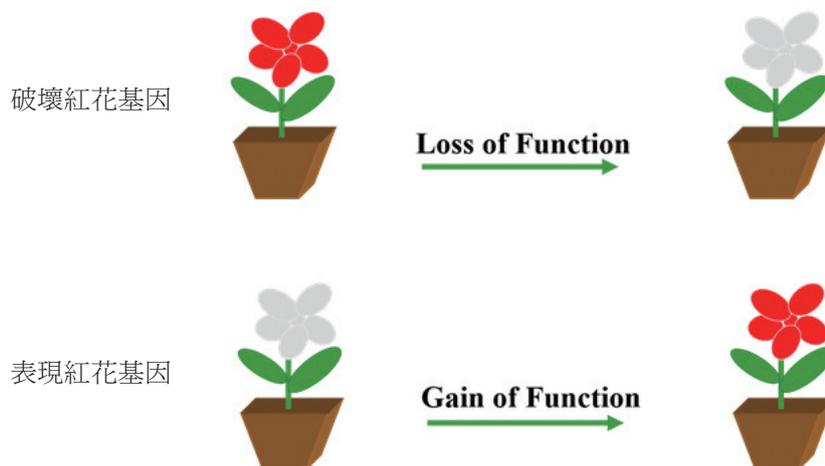
蘭花是開花植物中最大的家族之一，其絢麗優雅的花形吸引人們的目光，蝴蝶蘭更是臺灣重要的出口農產品。然而蘭花生長緩慢，由種子播種到發芽，約需兩年的時間，因此限制了蘭花的研究方向，我們發展了一病毒載體，此病毒載體讓植物學家得以快速分析蘭花基因功能，讓我們得以窺探蘭花的奧秘。

前言

蘭花是開花植物中最大的家族之一，其絢麗優雅的花形不僅吸引昆蟲或其他媒介為其傳粉，幾世紀以來，更吸引人們的目光，有人甚至為了搜尋特殊的蘭花品種，散盡家財，甚至犧牲生命。蘭花雖然漂亮，但生長緩慢，而且照顧不易，以大家常見的蝴蝶蘭為例，由種子播種到發芽，約需兩年的時間，蘭花栽培雖然緩慢、困難，但臺灣民眾對蘭花的喜愛硬是將困難栽種的蘭花轉為成功的產業，在臺灣各地都有趣味栽培者或業者，組成協會，會員們定期的舉行聚會，把花費數年所培育出的蘭花新品種，與同好相互觀摩與競賽。所以臺灣在蘭花新品種的推出方面，能在世界上具有領先的地位，與這種長年培養出來的文化，有著絕對的關係。臺灣在蘭花產業雖然成功，但不斷的研究解決目前產業面臨的困難，或發展出新的產業方向，仍是維繫這項產業長久不墜的重要動力。然而蘭花的研究，常受到生長緩慢的影響，而限制了蘭花的研究方向。

遺傳密碼與基因功能分析

生物的遺傳密碼記載於構成染色體的DNA上，遺傳密碼記載了生物特徵及內部生理的運作的方式。DNA由4種稱為核酸的化合物（代號為A,T,C,G）所構成，DNA藉核酸配對而成雙股，A與T配對，C與G配對，不同核酸排列順序決定不同的遺傳資訊。生物在遺傳密碼的轉譯過程，會由DNA密碼轉換成單股RNA（另種核酸），有些RNA會再轉譯成蛋白質。生物體藉由RNA執行調節控制的功能，蛋白質則形成生物結構，或執行生物化學反應。由於DNA解序技術的進展，生物遺傳密碼全解序的困難降低，遺傳密碼完全被解開的生物，每日都在增加之中。但即使記載生物遺傳訊息所有密碼的天書可以完全攤在眼前，如何了解這部天書的含意，將這部天書譯成一般人可懂、可讀的書籍則仍有待生物學家的努力研究。生物學家在研究這部天書時，常以基因為單位來進行研究，基因是染色體DNA上的一小段區域，為控制遺傳表現的單位，例如有些基因決定花的顏色，有些基因決定花的形狀。研究基因的方法在概念上很簡單，通常是想辦法將基因破壞掉，然後看破壞特定基因後對遺傳表現的影響（Loss of function），例如在紅花的植物上將一個基因破壞掉，結果其顏色變白，我們就知道這個基因跟花色有關（圖一）。或是將一個基因表現在背景的生物上，看其對遺傳表現的影響（Gain of function），例如在白花的植物上將一個基因大量表現，結果其顏色變紅，我們也可知道這個基因跟花色有關（圖一）。整部遺傳天書包含無數的基因，誰有能力快速並正確的解讀，則為目前科學家努力的目標，這些訊息的闡釋則為日後應用的基礎。



圖一、基因功能的基本分析方式。

植物基因功能分析的方法

在植物上要將一個特定的基因破壞並不容易，目前一般的做法為遺傳篩選，以紅花基因的研究為例，先利用突變劑隨機將開紅花的種子DNA產生變化，每顆種子DNA被改變的區域並不相同，再把這些種子種起來，在數千至數萬的後代中，如果發現有少部分的植物開出白花，其可能原因為這些種子DNA變化的區域剛好破壞紅花色素色基，因而開出白花，接下來就會在這些白花植物上，利用一些方法把這些被改變的基因區域找出來。而在植物上要將一個基因大量表現的方法，一般是則藉由基因轉殖技術來完成，基因轉殖技術是將一段DNA插入生物體內DNA中，在植物上一般是藉由基因槍或農桿菌來進行基因轉殖，基因轉殖仍需藉由種子，或是經由組織培養來完成。不論是遺傳篩選或是基因轉殖方法，對生長期短的植物較為方便，但對生長期長的植物，則需長時間等待才能得到結果，因此並不易利用於蘭花的研究。

基因靜默

科學家在1990年發現重要的現象-基因靜默。基因靜默現象為發現生物體內具有監測與調控RNA功能的機制，研究發現雙股RNA的產生會引起一連串反應，最後將與雙股RNA序列相同之RNA破壞，但不會破壞其它序列不同之RNA。由於此現象的發現，科學家在進行loss of function（請見先前描述）研究時，只要設計與目標基因序列相同之雙股RNA，並送進生物體內，就能攻擊目標基因。

利用病毒載體分析蘭花基因功能

在植物上要將雙股RNA送進植物體內，可藉由基因轉殖，然而蘭花轉殖技術仍相當困難，且就算轉殖成功，仍得等到兩年才能看到開花。另一種將雙股RNA送進植物體之可行的方法為把病毒當成工具，將雙股RNA送入植物體中，此等病毒稱為病毒載體（virus vector），病毒在感染植物時，可非常快速佈滿全植物體，以常見的蘭花病毒-東亞蘭嵌紋病毒（*Cymbidium mosaic virus, CymMV*）為例，約兩星期就能感染全植物，因此我們為加速蘭花基因功能的研究，嘗試建立一利用東亞蘭嵌紋病毒載體，我們找到了一不會引起明顯病徵的弱系病毒，利用此病毒載體來將雙股RNA送入植物體內，協助蘭花基因功能之分析。我們成功的建立此一系統，並將一與花朵形成有關的基因放入病毒載體中，並將此病毒接種於剛剛抽花梗的蝴蝶蘭上，待蘭花開花後，由於花朵形成基因受到破壞，使花朵形成受到影響而葉化（圖二），此等方法所需時間約為2個月，大幅縮短蘭花基因分析的困難度及所需時間。雖然蝴蝶蘭一般一年只開花一次，然而我們利用溫度控制，日溫25°C，夜溫18°C就可誘導蝴蝶蘭產生花梗，因此實驗室內終年皆可進行實驗，我們並將此病毒載體與國內外研究人員分享，期待能加速我們對蘭花的了解，讓我們得以窺探蘭花的奧秘。



對照組

實驗組

圖二、蝴蝶蘭開花基因被抑制後使花部花育受影響而葉化。