

螢光魚的技術與發展過程

壹●前言

「生物科技產業」從前幾年興起之後，近年來儼然興起一股風潮，其中又以「基因工程」蔚為熱門，利用生物技術，將不同生物體的基因轉殖到新的生物體上，或者是先由人工培養，然後在植入生物體內，使得原本的生物體具有原來所未有的特徵，抑或是滿足人類對生物的某種特別目的。

因為現代人生活繁忙缺乏調劑，所以很多家庭都有寵物陪伴，我們這次的題目就是起源於此，因為某次在水族館發現到螢光的魚，覺得很好看又很有趣，所以便進一步向老闆詢問了一些問題，然後我們回去之後對這種身體會發出螢光的魚做更進一步的了解，先從網路上尋找相關資料，了解魚的品種；然後在對資料上所提到的一些生物技術或是專有名詞去閱讀一些書籍，然後經過整理和討論之後，完成了此次的報告。

貳●正文

一、螢光魚簡介

螢光魚是運用基因工程及基因轉殖兩項新興生物技術所研發完成的新魚種，簡單的說，就是把一段組合完整的外來基因片斷，經顯微注射方式迫使它進入胚胎的細胞核或細胞質內，好讓此外來基因片斷能在於胚胎中繼續複製，進而表現出該段外來基因的特性。外來基因可以來自同種的魚或不同的物種，甚至可以經過基因工程組合過的 DNA 片斷。

螢光魚轉殖技術研究，是近年全球熱門的議題之一。國內水生技業者「邕港科技」與台大漁業科學研究所，共同研發成功全球第一條肌肉型螢光金斑馬魚「邕港二號」，在觀賞魚中掀起炫風。

邕港科技螢光基因魚是台灣生物科技產業技術領先全球的重要成果代表，螢光基因魚是結合基因工程、基因轉殖、同型合子優生育種及多倍體不孕技術開發等生物科技重大突破的生技商品，其能於黑暗中散發出美麗且多采多姿的螢光色彩。就觀賞價值而言，螢光基因魚正式開啟全球首創水族箱「日·夜」雙景的新享受。現代人工作繁忙、生活壓力大，產生許多文明病；在夜闌人靜或需沈澱心靈時，欣賞著螢光基因魚，壓力煩惱自然一掃而空，極具夜間觀賞減壓之功能，邕港螢光基因魚堪稱為「魚中鑽石·減壓天使」。

此外螢光魚的成就不只在水族業上，也是未來生物科技，莘莘學子可藉由健康活

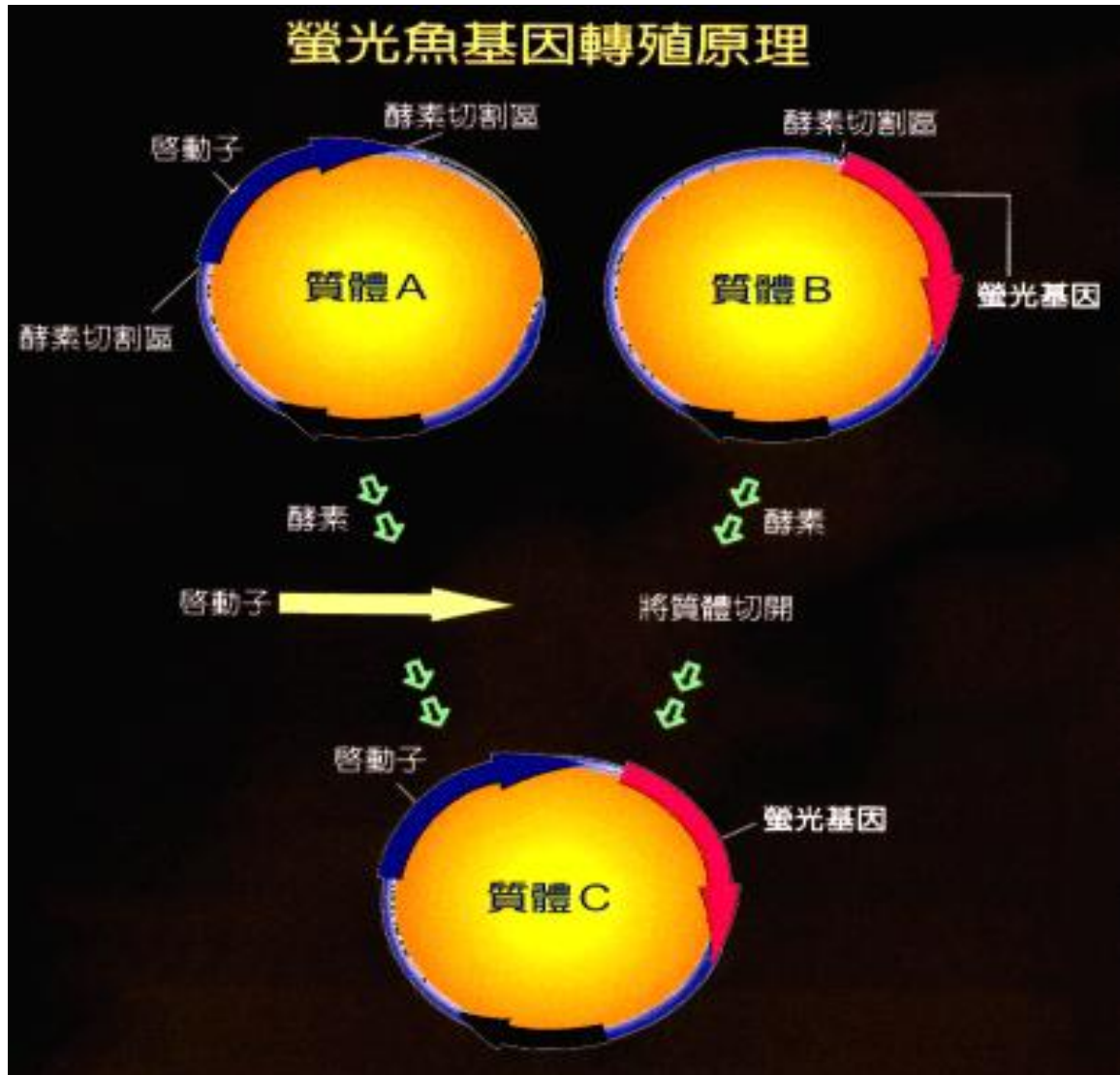
潑的螢光魚來了解高科技的基因工程與基因轉殖技術、從中探討學習生物科技的奧秘。除了觀賞、生命科學探索及生物科技教育的功能外，由於此重要生物技術研發的突破，螢光基因魚未來在生醫研究、新藥開發實驗、環境工程指標生物及人類基因功能找尋運用研究也將扮演極其重要的角色。

二、螢光魚的生物技術秘密

1、基因轉殖原理

「基因轉殖」應用在魚類上是最近幾年興起的一項科技。簡單的說，就是把一段外來的基因片斷，經顯微注射迫使它進入胚胎的細胞核或細胞質內，好讓外來基因片斷能在於胚胎中繼續複製，進而表現該段外來基因的特性。(註一)

利用酵素將啟動基因的序列(啟動子)從質體 A 切出，然後連接到已利用相同酵素切開的質體 B 內(含有綠螢光基因)，即構築了具有特殊啟動子驅動綠螢光基因的 C 質體，這樣構築好的片段就可以用來進行基因轉殖(註二)。



2、顯微注射技術

基因顯微注射法，成功產製基因轉殖動物的報告首被發表在1980年代，此技術至今仍被廣泛使用在產製基因轉殖動物，且證實能有效且穩定的獲得基因轉殖動物，對產製基因轉殖之家畜而言，此法可能是最顯著方便之途徑以達成家畜基因轉殖之目的。

A、顯微注射法的優點

外源 DNA 在宿主動物染色體上的整合效率為較高

由於外源基因之導入會先於雌雄原核融合，故外源基因可以整合到宿主細胞染色體內，且被轉殖之基因，可保有其整套之序列。由此產生的基因轉殖動物所有組織和細胞，包括體細胞和生殖細胞，即帶有這一外源基因，且其整合的位置與基

因套數(copy number)基本上都一樣，被嵌入之外源基因可正常地在生殖細胞系中被傳承(transmission)給子代

對導入的基因大小要求不嚴格，甚至可導入 50~100kb DNA 的片段。

B、應用顯微注射法缺點

需具備產生眾多單細胞胚之有效技術

顯微操作設備之價格昂貴

嫻熟靈巧之顯微注射經驗需較長時間之磨練

外源基因注入胚原核後，係以隨機方式嵌入基因組 DNA，以基因顯微注射法無法掌握其嵌插情形。此外，顯微操作亦殊為耗時；以豬胚為例，豬胚因含有許多不透明之脂肪物質，需經遠心分離處理，並在顯微鏡下將胚旋轉至適當角度，始可顯露其細胞核，供基因之正確注入，致其顯微操作速度緩慢耗時。

3、不孕技術

為了避免研發成果於商品化時，被其他國家競爭者取得後繁殖，影響台灣獨有之外銷優勢，邇港科技進而研發多倍體技術以確保商品化之基因魚不具有受孕能力，並可避免當魚隻流至大自然時，對生態造成衝擊。

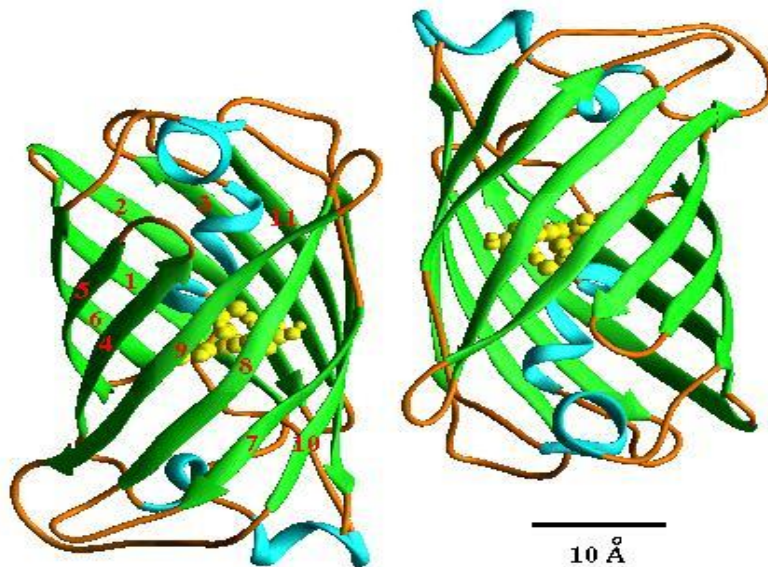
正常染色體的數目是 2N，而且染色體都是經過複製一次、分裂兩次的程序擴增，也就是 2N 複製一次成為 4N，4N 經過兩次分裂成為 1N（一個精子 或一個卵子），1N 再各自去結合精子或卵子成為 2N，然後週而復始進行這個程序。而隔代不孕技術就是將染色體 4N 控制為分裂一次，成為 2N（兩個精子或兩個卵子）的配子，再與別的 1N 結合成為 3N，就無法再繁殖下一代，達成隔代不孕的目的。

三、螢光基因來源

綠色螢光蛋白(green fluorescent protein)，簡稱 GFP，這種蛋白質最早是由下村脩等人在 1962 年在一種學名 (*Aequorea victoria*) 的水母中發現。其基因所產生的蛋白質，在藍色波長範圍的光線激發下，會發出綠色螢光。這個發光的過程中還需要冷光蛋白質 Aequorin 的幫助，且這個冷光蛋白質與鈣離子(Ca^{+2})可產生交互作

用。

由水母 (*Aequorea victoria*) 中發現的野生型綠色螢光蛋白，395nm 和 475nm 分別是最大和次大的激發波長，它的發射波長的峰點是在 509nm，在可見光綠光範圍下是較弱的位置。由海腎(sea pansy)所得的綠色螢光蛋白。



四、螢光魚的發展史

基因轉殖技術是最廣泛被人討論且有突破性發展的項目之一，當然也是全球關注的焦點所在。

螢光魚自 2001 年首度發表以來，每年均有亮麗的生技研發成果公諸於世：2001 年首度發表「全球第一條全亮螢光魚—邨港 1 號夜明珠」，就是以青鱗魚來進行基因轉殖及改良的魚種，全身散發出綠色的螢光魅力。

2002 年發表肌肉性發光的邨港 2 號紅、綠螢光仙子後，是以斑馬魚為轉殖魚種。

2003 年再次領先全球發表同時具有綠色螢光基因及紅色螢光基因的「邨港 3 號雙基因螢光魚」。此外，歷經多時精心所研發成功的邨港 1 號夜明珠也於 2003 年正式量產首賣。

2004 年發表「全球第一條全身型紅螢光基因魚－「邨港紅色 1 號」，有別於 2001 年發表的綠螢光青鱗魚，此次是將珊瑚紅色基因以運用基因工程及基因轉殖的生技技術植入青鱗魚的胚胎中，而產生全身發紅螢光的邨港紅色 1 號螢光魚。經由這幾年的研發與發表，螢光魚儼然已呈現出「繽紛的螢光世界」，不只有綠色、紅色，甚至有陸續研發成功的各色邨港 2 號螢光斑馬魚－紅、綠、紫、黃，各色螢光魚在短波長黑燈及藍燈的照射下相互輝映，真正展現出「五彩繽紛」的螢光世界！

五、未來發展

無疑地，這種全身會發綠色螢光的 TK1 基因魚可以說是融合了「基因工程」及「基因轉殖」等兩項現代高科技的重要成功產物的代表。證實了藉著運用這些生物科技的研發，將會使得各種觀賞魚的體色變得變化多端、鮮豔奪目，含有特殊顏色的新品系勢必油然而生、賞心悅目。而且，經過這種改良的基因轉殖魚，除體色外，其它的生理及遺傳特性都與原來的野生種完全相同，改變過的體色也相當穩定，絕不會「曇花一現」，也就是不用顧慮會因環境或長大而有所變化，造成體色消逝。

顯然的，這種全身性發綠色螢光的 TK1 基因魚擁有了特殊的綠色「衣裳」，堪稱世界上獨一無二的新品系，相信除了有高度觀賞價值之外，也是一種極具現代感的生物科技產品，將來更可進一步地被應用在生命科學及醫藥上研究的新材料。

1、醫學方面貢獻

中央研究院細胞與個體生物學研究所特聘研究員吳金洌博士和他的研究團隊，最近建立一個新的研究模式。新模式選用的動物是斑馬魚，研究內容是與消化道有

關的疾病。操作方法則是透過螢光基因和基因轉殖技術，培育出特定器官會發出螢光的斑馬魚，以便研究者能在活著的斑馬魚身上直接觀看器官的發育與病變。

斑馬魚是脊椎動物，在胚胎及幼魚階段全身透明，肌肉、心臟、肝臟、腸道、血管、血球和內臟在解剖立體顯微鏡下清楚可見。牠的發育過程、器官構造、生理功能、基因結構等都與哺乳類動物非常相近，因為具備了這些特徵，所以被選為這個研究的模式動物。

當研究人員決定從肝臟疾病的研究模式著手後，就開始準備培育「只有肝臟發光，其他部位不發光」的斑馬魚。不過，在進行培育以前，必須先找到只會在肝臟細胞內啟動的「啟動子」。因為「啟動子」是一個重要的基因序列，沒有它基因就無法表現，而且特定的基因要由特定的「啟動子」啟動。這種關係，有如開關和家電用品的關係一樣，如果開關沒打開，電氣用品就無法啟動。

研究人員終於找到一個只在肝臟表現的基因——肝臟型脂肪酸結合蛋白（簡稱 L-FABP）。於是透過基因選殖技術，先把這個基因的「啟動子」選殖出來，然後接上「綠色螢光蛋白」基因，再經由基因轉殖、注入魚受精卵、培育、篩選等程序，最後得到只在肝臟發出綠色螢光的斑馬魚。

參●結論

螢光魚的產生主要是來自於基因轉殖原理，利用酵素將不同質體的啟動子和螢光基因取出作為結合，然後這個構築好的片段就可以用來進行基因轉殖，來植入各種不同種類魚的基因當中，其中在植入基因的時候，所採用的技術最常見的是顯微注射技術，這方法已被證實在基因轉殖的時候是最有效且穩定的方法，其中最主要的一項因素就是：外源 DNA 在宿主動物染色體上的整合效率較為高；但是這方法也有缺點，諸如：需要產生眾多單細胞胚的有效技術、顯微操作設備的價格昂貴、良好的顯微注射經驗需較長時間之磨練…等等。維繫著螢光魚的另一項因素就是螢光基因的來源為何？此為來自於綠色螢光蛋白，簡稱 GFP，此蛋白質在藍色波長範圍的光線激發下，會發出綠色螢光。科學家在研發螢光魚的同時，為了避免生態遭受到破壞，所以在螢光魚的基因上採用了一種新技術：讓螢光魚的基因變成多倍體，使得螢光魚無法繁衍後代，避免造成過度繁衍，影響生態的平衡，我想這個對於本土種類的保護亦有相當大的作用。

肆●參考資料

註一、周桂恩。基因改造螢光魚的風險評估與科技政策。科學發展期刊。第 387 期。83、84 頁。

註二、邵港螢光魚。http://www.azoo.com.tw/azoo_tw/tkfish/bu1_1.php。2008

年5月3日

王子元、陳俚任、廖德裕。全球領先的螢光魚—談青鱗魚的生態保育與基因改造應用。自然保育季刊。47卷。55頁。