



蠶蜂為本場特有之重點業務，近年來研發重點配合卓越農業、精緻農業及安全農業理念，以家蠶分子牧場、蜜蜂授粉技術及蜜蜂保護等為研發重點。為發展家蠶生物反應器平臺，98 年度選育出高外源蛋白產量的新蠶種組合，並開發出可供量產的新接種技術，此技術已通過農委會智審會審查，正在撰寫專利中；國內需蜜蜂授粉的農作物總產值每年約臺幣 500 億，開發網室蜜蜂授粉技術，擴大應用於經濟作物品質的提升，將是未來努力的目標；高蜜種及漿種的選育持續進行中，待評估其商業潛力後將進行成果觀摩事宜；為建立蜜蜂健康管理模式，以反轉錄 PCR (RT-PCR) 技術，進行全臺蜂場之監測診斷，相關成果已發表於

「2009 年第七屆海峽兩岸蜜蜂及蜂產品研討會」；值得一提的是，本場繼 2008 年「生技新絲路-家蠶生物反應器」之後，再度以「農業之翼-小蜜蜂立大功」，榮膺 2009 臺灣國際生物科技大展大會之星（7 月 23~26 日，臺北世貿一館），展出蜜蜂授粉技術及蜜蜂病毒監測等研發成果，獲得民眾熱烈的迴響；4 天展期參觀人潮約 8000 人，98 年度之研發成果，將成為未來蠶蜂新科技研發、農民服務及產業化推動的重要基礎。



家蠶生產外源蛋白

關鍵技術之開發

為建立以家蠶當作生物反應器，高價蛋白產物之生產平台，本研究利用桿狀病毒表現載體 (Baculovirus Expression Vectors, BEVs) 感染家蠶，可用以生產高經濟價值的蛋白產物。其關鍵技術包括：選育適合生產外源蛋白蠶種 1~2 種、添加適量佐劑，促進感染及外源蛋白表現量及建立以蠶蛹當作生產工具，生產優質蛋白質產物。

以珊瑚紅螢光及 E2 為外源基因，家蠶 OJ03 * OJ04 等 F₁ 組合於五齡起蠶日，分別注射感染重組病毒。結果顯示：家蠶感病及外源蛋白生產量會受季節影響。

YC05 * YC09 及 YC09 * YC05

可同時表現高量 RFP 及 E2，可作為優質候選品系之一。佐劑添加試驗結果以 1% 之 Tinopal 供口服感染，感染率達 60%，尚無法取代注射感染。蛹期表現 RFP 之結果顯示：幼蟲於感染後第 4

日達到高峰，而蛹期以感染後第 5 日為最佳採收時期。

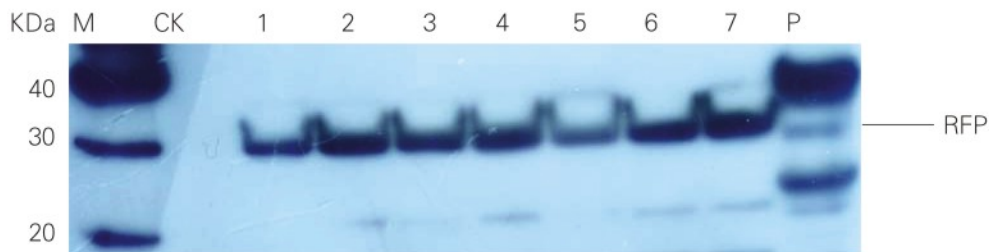


圖1、春蠶期各原種組合生產RFP情形

第 M 行，蛋白質分子量標準品；第 P 行，標準品不同稀釋 (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) ；
 第 1-7 行，各原種組合之家蠶體液，第 CK 行，未感染之家蠶體液。

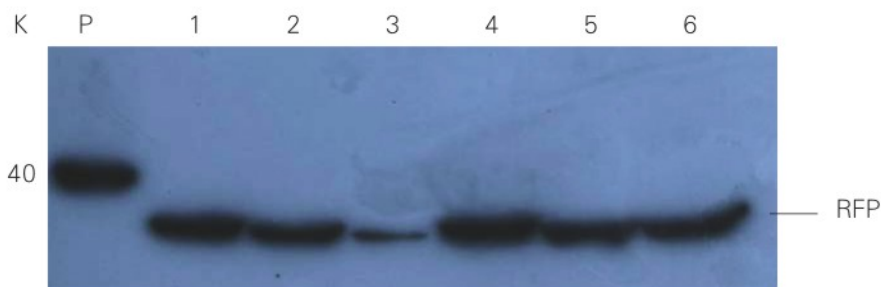


圖2、秋蠶期家蠶品系表現RFP情形

第 1-6 行，受感染家蠶體液；第 P 行，紅螢光蛋白標準品 (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) 。

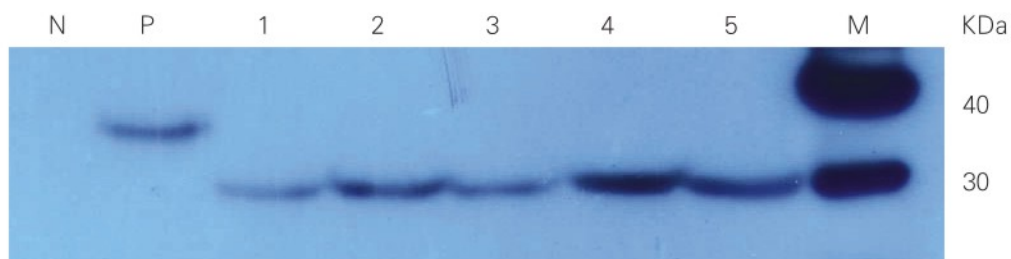


圖3、RFP在幼蟲體液之消長表現情形

第 N 行，未感染之家蠶體液；第 P 行，紅螢光蛋白標準品 (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) ；第 1-5 行，
 感染後 60、72、84、96 及 108 小時之體液；第 M 行，蛋白質分子量標準品。

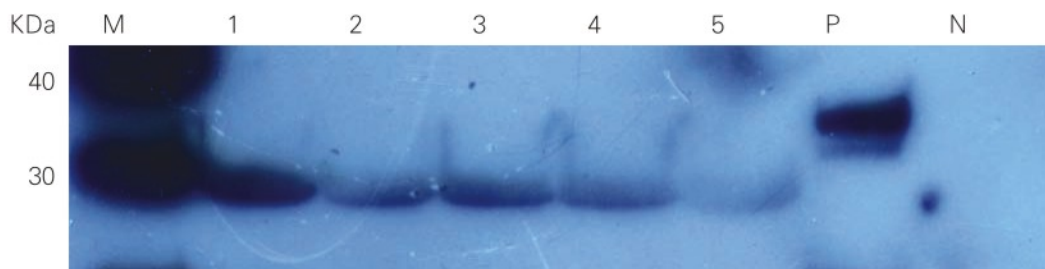


圖4、RFP在蛹期體液之消長表現情形

第 N 行，未感染之家蠶體液；第 P 行，紅螢光蛋白標準品 (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) ；第 1-5 行，
 感染後 108、96、84、72 及 60 小時之體液；第 M 行，蛋白質分子量標準品。

桑樹品種侵權鑑定技術

苗栗改良場保育有 238 種桑樹品系，分為山桑系 (*Morus bombycis* Koidz)、白桑系 (*Morus alba* Linn)、魯桑系 (*Morus latifolia* Poilet)、烏桑系 (*Morus acidosa* Griff)、臺灣桑系 (*Morus formosensis* Hott.) 及廣東桑系 (*Morus atropurpurea* Roxb)，除少數常見之品系外，大多尚未鑑別，亦不清楚其親緣關係；傳統外觀為基礎之鑑別方式，效率不高且易受環境、樹齡及發育時期之影響；為開發出「苗栗 1 號」特有的分子標誌，作為未來侵權鑑定的依據，選定 5

種與苗栗一號性狀相近的廣東桑品系，以 CAPS (cleavage amplified polymorphic sequence) 策略增殖特有片段並定序酶切，以其多形性作為品系間鑑定及演化依據，結果顯示冷馴化誘導蛋白 (cold-acclimatization induced protein) 基因及肌動蛋白 (actin) 基因片段可作為桑 CAPS 之目標基因。在廣東桑 5 種品系間，單一核苷酸變異而產生的多型性，可作為「苗栗 1 號」的鑑定依據，依上述 2 種基因序列畫出之廣東桑品系親緣圖，顯示「苗栗 1 號」與 46C019 遺傳距離較近。

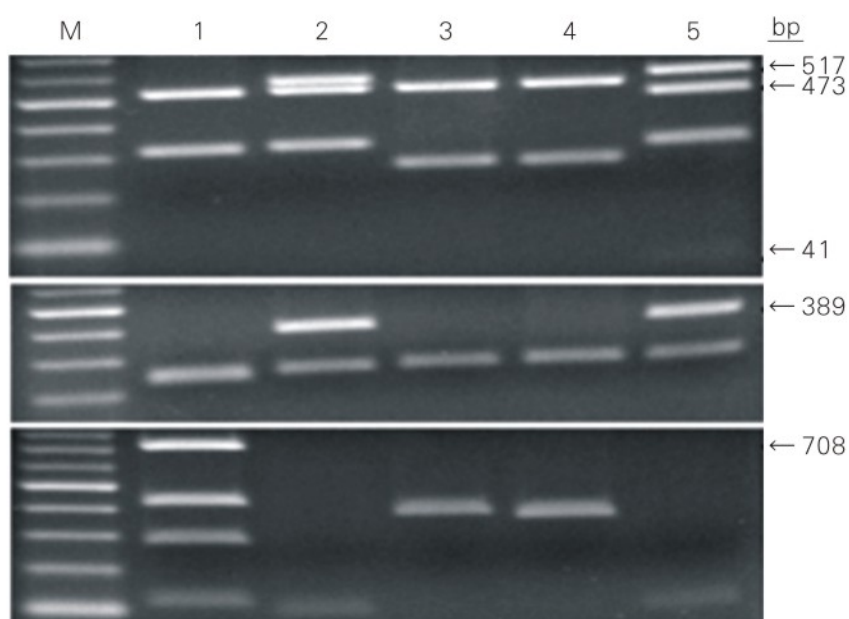


圖1、廣東桑5種品系冷馴化誘導蛋白片段多形性

Fig1. The polymorphic pattern of 5 varieties of *M. atropurpurea* revealed by cold acclimatization-induced protein gene (CAIP) after restriction enzyme digestion. I: CAIP/Rsal, II:CAIP/MspA1I, III:CAIP/Bfal; Lanes: 1 Taisum No 2, 2 Taisum No 3, 3 46C019, 4 46C020 and 5 Miaoli No1. M:100 bp ladder marker. The arrow, its size calculated by sequence date, means the polymorphic band used for variety identification.

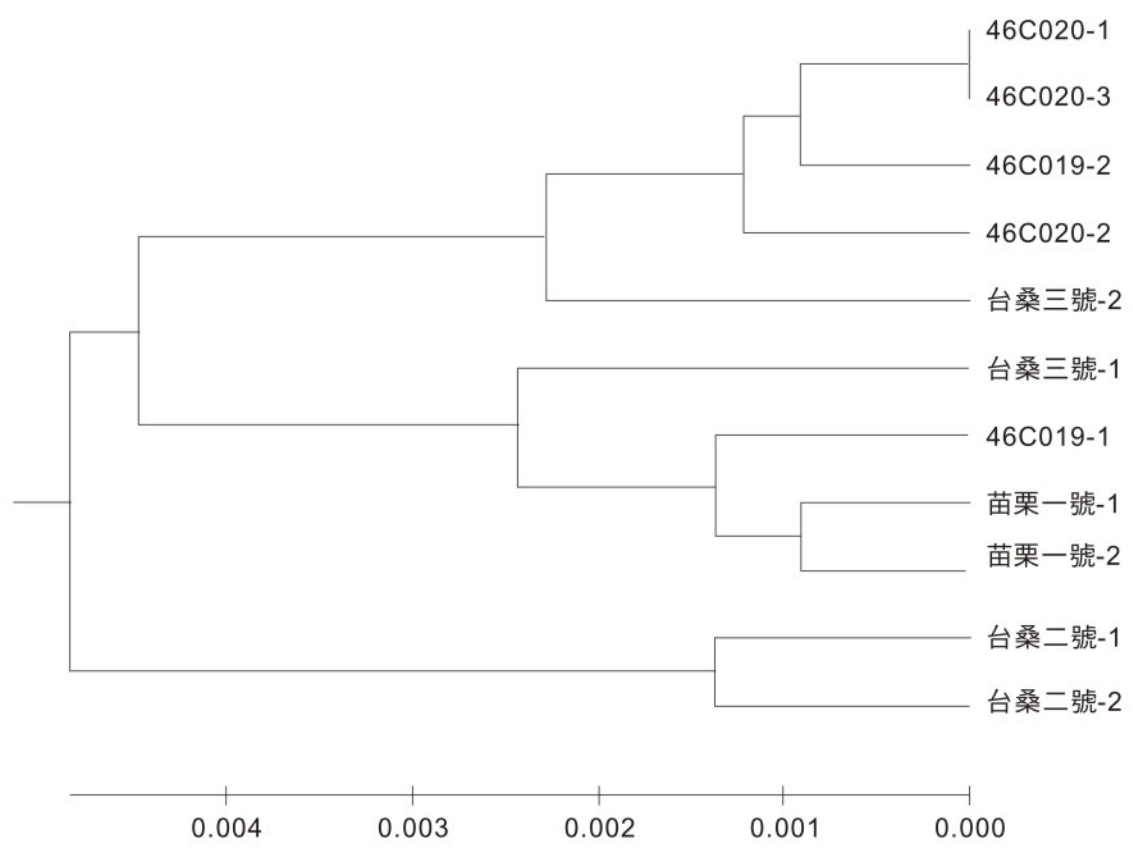


圖2、廣東桑5種品種親源關係樹形圖

以家蠶為生物反應器生產豬瘟疫苗及抗菌蛋白

高效率之家蠶重組病毒新感染方法已於98年10月30日通過農委會智審會，擬進一步進行專利申請；高E2表現量之家蠶原種篩選結果顯示，慣行品系（編號11）與編號8體液內的E2蛋白濃度為1440 ng/μl，編號9品系E2蛋白濃度高達2880 ng/μl，比慣行品系高出1倍，擬於秋蠶期進一步進行正反交比較；同一品種紅螢光表現量與E2表現量無顯著相關；家蠶原種中RFP濃度最高可

達4.26 μg/μl，比慣用品系2.95 μg/μl多1.4倍；平均每隻蠶體液所含之抗菌蛋白PLE約280 μg。將含有PLE之體液分別儲存於-20°C、4°C及10°C 2個月，顯示僅-20°C儲藏下的體液可偵測到PLE表現。



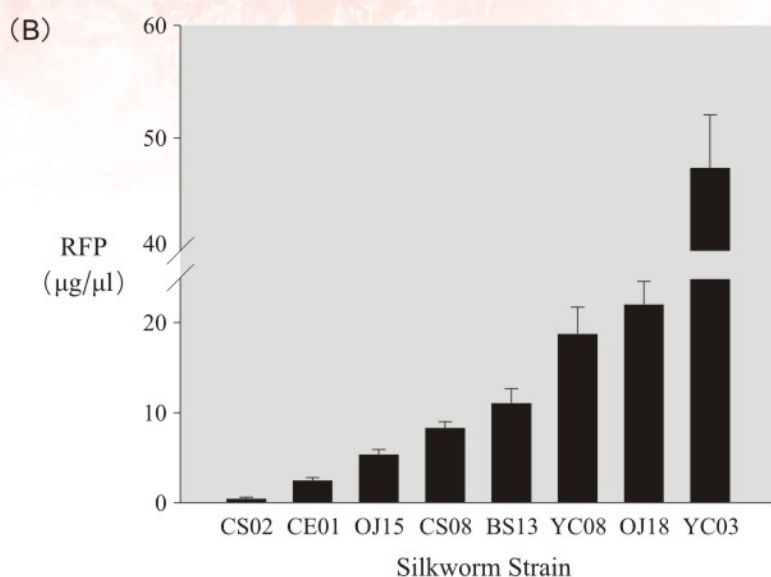


圖1、家蠶原原種RFP表現量

家蠶不同原原種紅螢光表現之差異。

(A)西方墨點分析結果，第M行，蛋白質分子量標準品；第CK行，未感染家蠶。

(B)以螢光光譜儀定量之紅螢光濃度，柱形圖內之百分比為感染率。

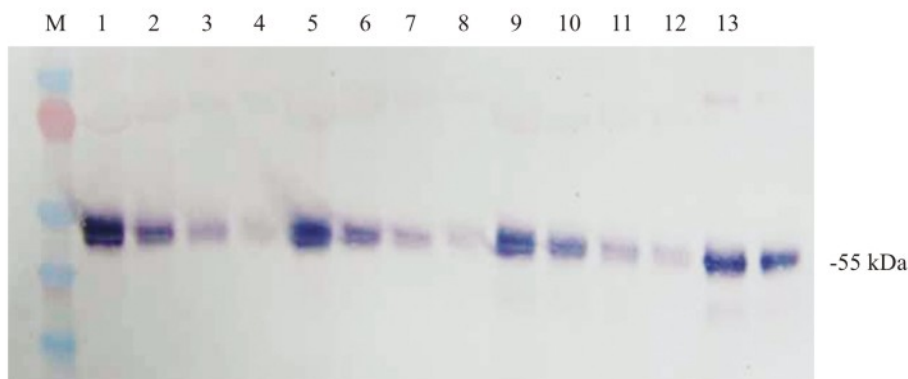


圖2、病毒不同接種濃度對體液內豬瘟疫苗累積的影響

第M行，蛋白質分子量標準品；第1-4行，接種 10^5 pfu/ml 含 E2 的 BmNPV；第5-8行， 10^6 pfu/ml 含 E2 的 BmNPV；第9-12行， 10^7 pfu/ml 含 E2 的 BmNPV；第13-14行，E2 蛋白標準品，分別為 48 ng 及 24 ng。

桑葉主要活性成份具抗癌細胞轉移之效及其機制探討

桑葉中富含 1-脫氧氮雜-D-葡萄糖 (1-deoxynojirimycin, 1-DNJ, 假糖類之一種) 是其主要活性成份。前人研究之中發現具抗癌細胞轉移能力 (動物試驗), 無論是在學術上或實質應用上均有其發展之潛力, 但其機制目前尚不清楚。告以 1-DNJ 抗癌細胞轉移為主軸, 於 98 年度計畫中測定 1-DNJ 抗 B16F10 黑色素癌細胞轉移能力, 並以細胞黏附、移行及侵襲做指標。結果顯示: 1-DNJ 在 20 $\mu\text{g/ml}$ 時可顯著抑制 B16F10 黑色素癌細胞轉移活性分析如黏附及侵襲等。在 20 $\mu\text{g/ml}$ 時 1-DNJ 亦可降低黑色素癌細胞之葡萄糖苷酶 (細胞內糖蛋白

生合成的關鍵酵素) 活性達 25%。經由流式細胞儀分析, 1-DNJ 可增加細胞膜表面含 α -mannose 糖蛋白 (正常細胞皆有之糖蛋白) 的表現 (在 100 $\mu\text{g/ml}$ 濃度時可達 49%), 顯著降低細胞膜表面含 β -1,6- 支鏈 (三及四個寡糖基)、 α -2,3- 及 α -2,6- 唾液酸苷等與癌細胞轉移能力正相關之糖蛋白的表現 (在 100 $\mu\text{g/ml}$ 濃度時, 分別可達 21%、32% 及 32%)。1-DNJ 可抑制 B16F10 黑色素癌細胞的轉移能力, 其機制應與降低葡萄糖苷酶活性, 進而改變細胞膜表面糖蛋白之糖化及唾液酸化反應有關。

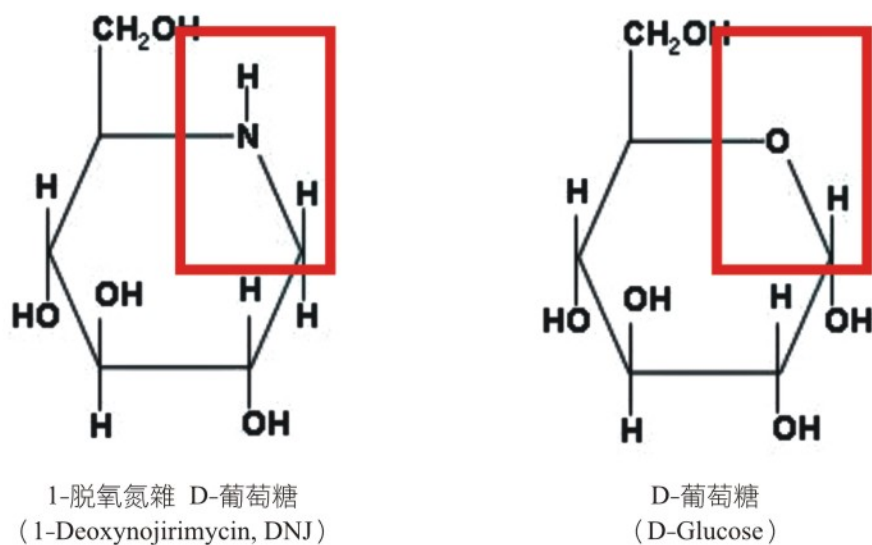
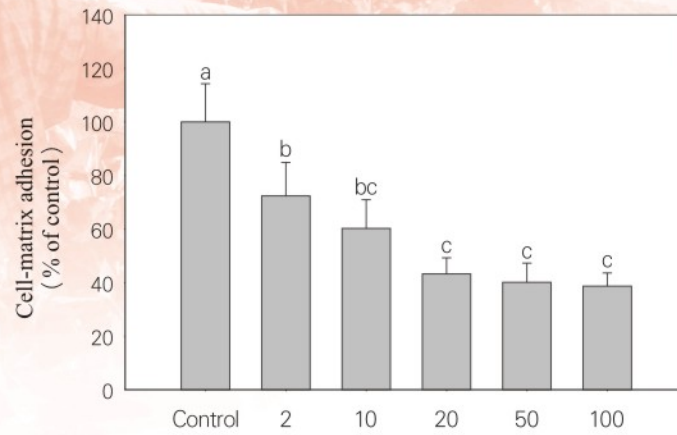
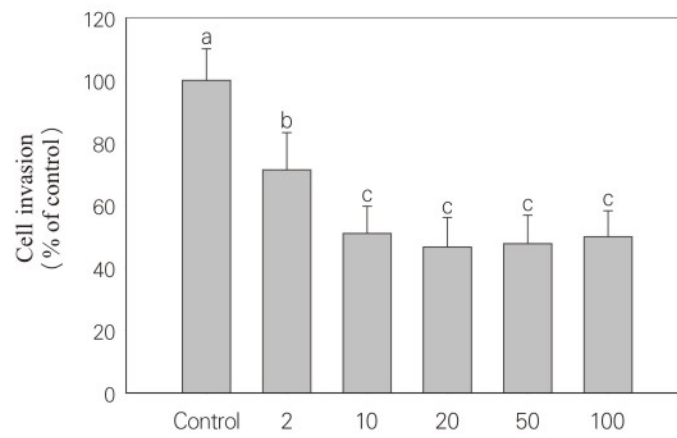


圖1、1-脫氧氮雜-D-葡萄糖及葡萄糖之結構式

(A)



(B)



(C)

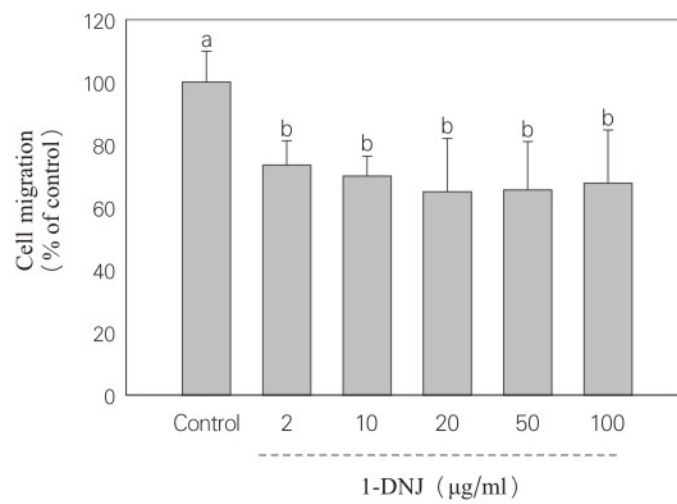


圖2、1-脫氧氮雜-D-葡萄糖 (1-DNJ) 對 B16F10 癌細胞黏附 (A)、侵襲 (B) 及移行 (C) 之影響

利用蜜蜂授粉量產全雌性 苦瓜雜交種子

全雌性苦瓜利用蜜蜂授粉採種，3 組合共 72 株，調查 32 天花期，蜜蜂訪花高峰於每日上午 10 時，5 朵花在 3 分鐘平均訪花蜂數為 4 隻，3 組雜交組合平均結果率為 95.6%、果長 23.06 公分、果寬為 7.74 公分

、果重為 493.3 公克，3 品系種子數分別為 20、24 及 14 粒，平均單株結數為 8 果，與人工授粉比較，利用蜜蜂授粉可節省工資達 2 萬元/月。

表1、3品系苦瓜親本組合蜜蜂授粉結果種子數

親本組合 (♀ × ♂)	著果率 (%)	成熟種子 (粒)	未熟種子 (粒)
苦288-1A × 苦343-3	93	20	2
苦292-1 × 苦343-3	96	24	1
苦383-1 × 苦343-3	92	14	0

- 1) 代號苦288-1A、苦292-1、苦383-1為母本，苦343-3為父本
- 2) 98年4月1日栽種，6月26日採收

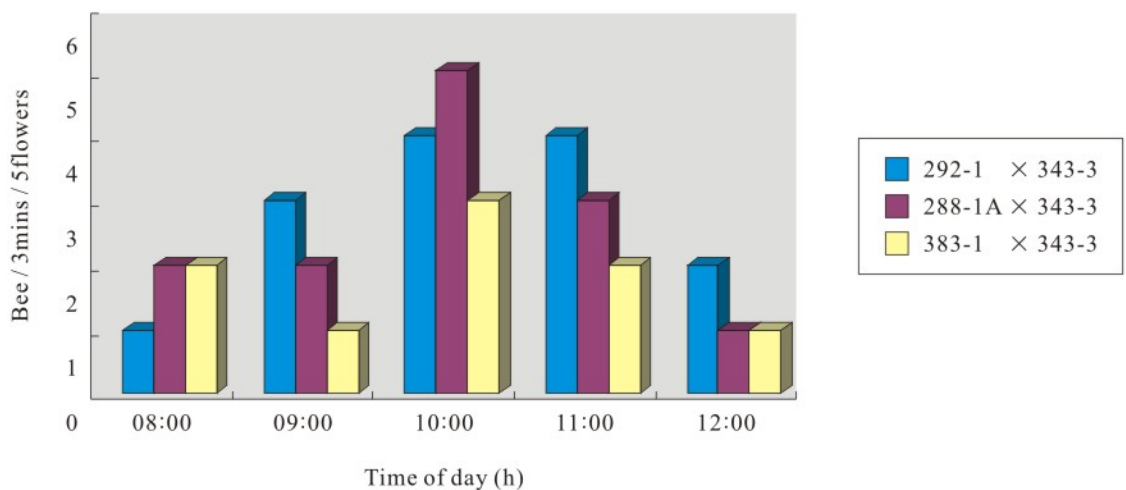


圖1、苦瓜利用蜜蜂授粉訪花頻度



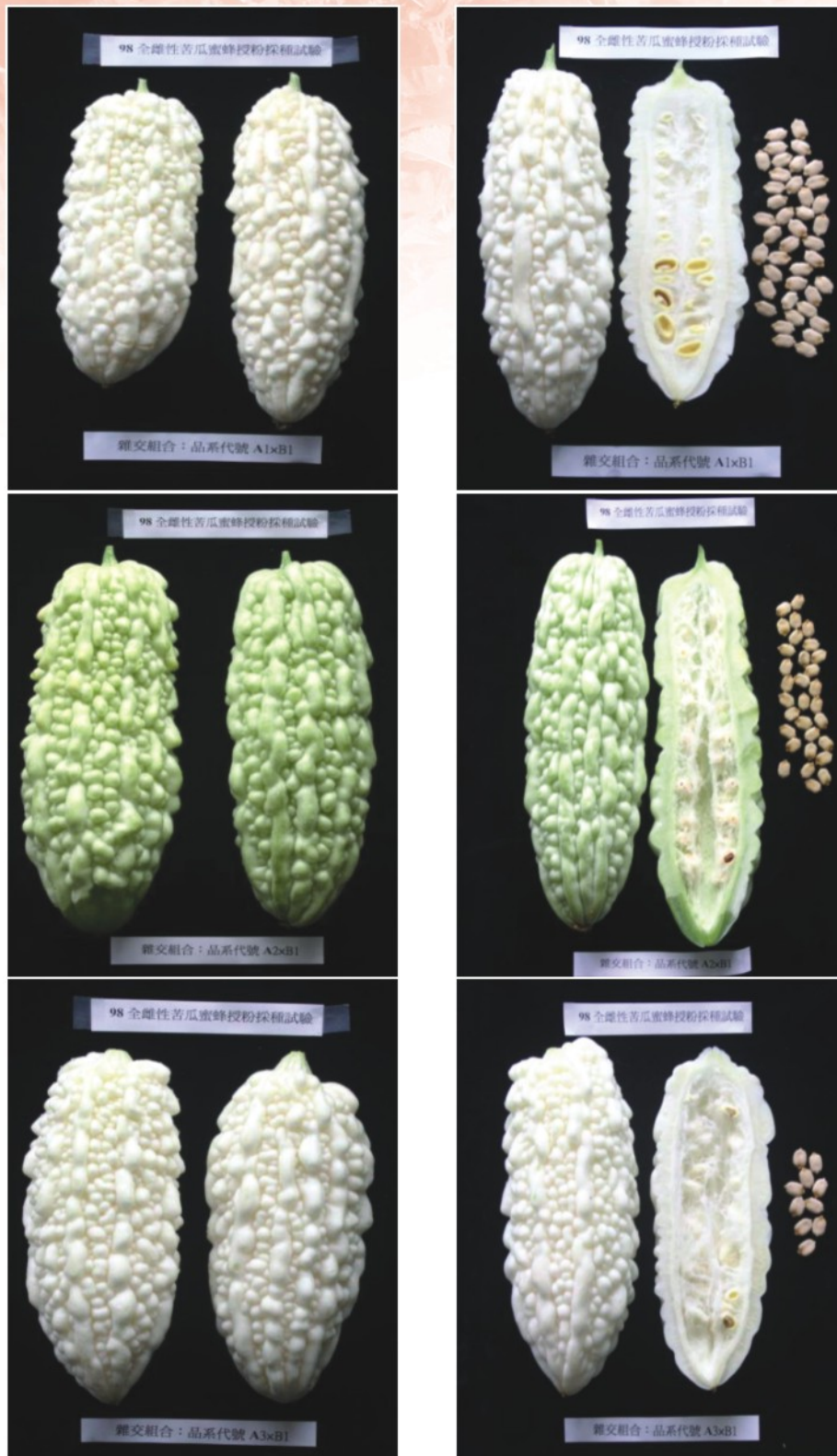


圖2、不同品系全雌性苦瓜利用蜜蜂雜交授粉果實與種子

家蠶種原庫之保育及利用

家蠶種原 136 個品系（種），春蠶期（4~6 月）及秋蠶期（9~11 月）依慣行保育方法繼代飼育及繁殖，每品系繁殖蠶卵約 75,000~100,000 粒，並將每品系繁殖的蠶卵冷藏保存於 5°C、75~80% RH 的冷藏室中。

春、秋蠶期並選取 50 個家蠶品系（種），進行五齡起蠶體重、食桑滿 4 日及 5 日體重、單粒重、繭層重、繭層率及健蛹率等性狀調查，結果顯示，在五齡起蠶體重、食桑滿 4 日及 5 日體重方面，春蠶期均以 VJ02 品系最重，秋蠶期較穩定之品系，則以 LL03 品系較重，表示其蟲體較大，適合應用在各種高產蛋白生產的相關試驗；春、秋蠶期均以 MS06 品系最輕，表示其蟲體較小，不適合應用在各種蛋白生產的相關試驗。在繭層重、單粒重及繭層率方面，春、秋蠶期較穩定之品系，均以 LL02 品系較重，表示其繭層較厚，絲量較多，適合應用在生產高絲量的相關試驗。經統計分析顯示相同蠶期不同品系（種）間有顯著差異；若以 VJ02 及 MS06 品系比較春、秋蠶期之五齡起蠶體重，則無顯著差異。由此可知，家蠶之五齡起

蠶體重、食桑滿 4 日及 5 日體重、單粒繭重、繭層重及繭層率等性狀，因品種、產期及飼育環境等不同而異。



桑葉摘取



種原庫家蠶飼育

蜜蜂保護及病毒害檢測技術

利用閉鎖集團育種方法進行蜜蜂高產種群篩選及育種，高產蜂蜜種群自 103 群篩選出 23 群，平均蜂蜜採集量為 3.4 公斤/96 小時/群，高產王漿種群自 55 群中篩選出 22 群，平均產漿量為 53.5 公克/72 小時/群，高產蜜及高產乳種群已分別育成新蜂王 115 隻及 100 群，以繼代篩選提高蜂王品質，提高單群生產能力。另外以反轉錄聚合酶連鎖反應法（reverse transcription PCR），監測臺灣地區 9 處蜂場，7 種蜜蜂病毒潛伏情形，結果顯示其中 5 種病毒 DWV、SBV、BQCV、KBV 及 KV 於取樣蜂場中潛伏存在；除 SBV 外，其它 4 種病毒可感染任一發育階段的蜂群；平均感染率在 6 月為 42%，12 月時則提升至 94.4%；病毒經序列分析及比對後，顯示臺灣蜜蜂病毒與南韓、中國及日本地區同種病毒序列相近，反映出病毒區域性演化的模式。

表1、98高產蜂蜜種群採集力調查表

產蜜量分級	平均產量(群)	蜂群數(箱)	百分比(%)
高	7.7 ± 1.2	23	22.3
中	4.8 ± 0.9	70	67.9
低	2.9 ± 0.6	10	9.7

- 1) 篩選蜜蜂總數為103群(箱)
- 2) 高(>4kg)、中(=2~4kg)、低(<2kg)

表2、98高產蜂王漿種群採集力調查表

產漿量分級	平均產量(群)	蜂群數(箱)	百分比(%)
高	60.2 ± 8.0	22	29
中	53.6 ± 9.1	17	30
低	32.6 ± 10.3	16	41

- 1) 篩選蜜蜂總數為55群(箱)
- 2) 高(>52kg)、中(=40~52kg)、低(<40kg)

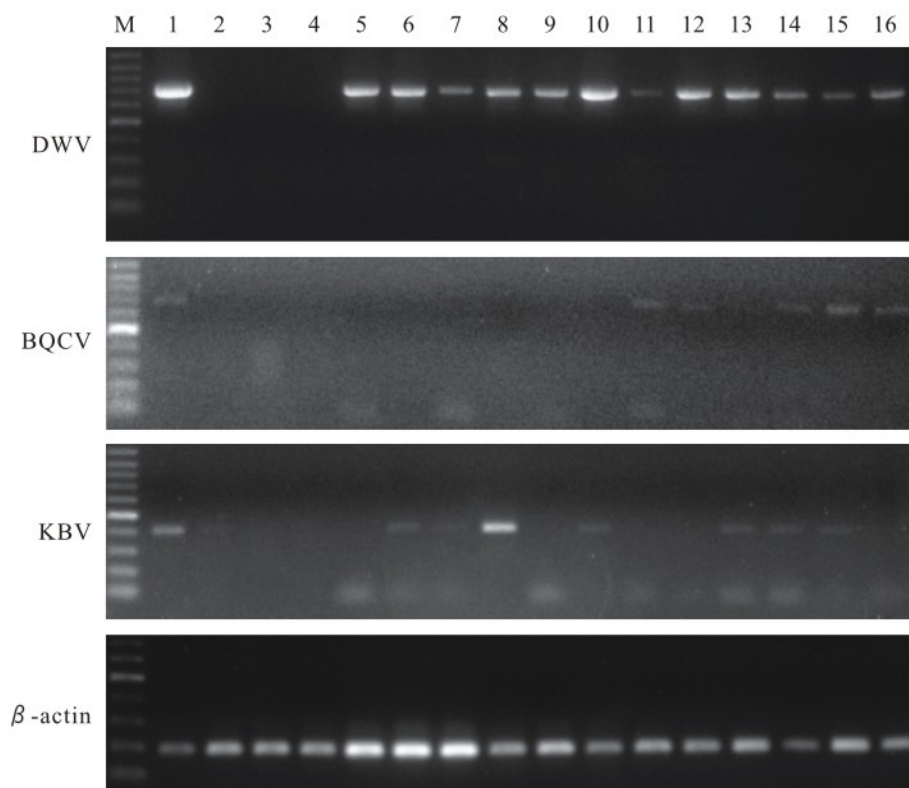


圖1、以反轉錄聚合酶連鎖反應法偵測蜜蜂病毒