

中華民國第四十八屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 生物(生命科學)科

040720

基因檢測？！GMO 之初探-以大豆為例

學校名稱：基隆市私立聖心高級中學

作者： 高二 呂青霞 高二 余雅筠	指導老師： 賴敏娟
-------------------------	--------------

關鍵詞： 基因檢測、GMOs、EPSPS

摘要

基因檢測法藉由 DNA 來檢測特定基因，本實驗以聚合酶鏈鎖反應(PCR)來檢測「耐嘉磷賽轉殖基因大豆」。並檢測三種基因「P35S」(啓動子)、「Tnos」(終止子)，及大豆品種特性基因「Lectin」，以確定此轉殖基因大豆含「EPSPS」(耐嘉磷賽基因)。DNA 純化以傳統「CTAB 法」及「反應試劑套組」(kit)進行，放大目標基因，並以 DNA 膠體電泳確認基因的片段(如圖一)。

由 PCR 電泳圖得知「P35S」PCR 產物長度為 100 bp，「Tnos」為 200 bp 及「Lectin」為 300bp。本實驗所檢測 21 件常見大豆樣本中，12 件為耐嘉磷賽 GMO 大豆，9 件為 non-GMO 大豆；由實驗可知，符合包裝上所標示基改加工食品 91%，符合包裝上所示的非基改食品 0%。

利用 PCR 來進行基因檢測省時、且不用將 DNA 完全解序，是目主要的檢測方法，也不會有蛋白質檢測時不靈敏的問題。所以本實驗希望在未來，可以找到一種廣效基因的檢測方法。

壹、研究動機

我們在生命科學裡學到，生物性大分子核酸(DNA 與 RNA)、蛋白質與所含有的化學成份，經常做為生物檢驗的目標，其中以利用 DNA 為檢測目標的 PCR 在應用上最為簡便，此外 PCR 也可應用於親子關係與刑事醫學鑑定等。

因此為了增進了解 DNA 檢測法，所以本實驗利用 DNA 檢測法來檢測基改作物。也就是在了解被改造的基因後，利用抽取 DNA，以 PCR 將改造的 DNA 片段放大，最後以膠體電泳分析 PCR 產物來確定是否存在此片段。

基因改造作物有許多種，本實驗選用的樣品，佔全球基改作物市場 60%的一基改大豆及其加工食品，容易購得以及在上市場常見是選用此產品的最大原因。

貳、文獻探討

一、基因檢測方法

1980 年美國開始執行人類基因重組計畫，並在 2000 年解開人類 46 條染色體的 DNA 序列，因此基因似乎就扮演著生物科技新紀元重要的角色(美國哈佛基因晶片生技公司網站)。

基因檢測方法很多，如聚合酶鏈反應 (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，但目前主要被運用的方法是 PCR(高毓瑛，2002)。

(一)、DNA 純化

DNA 在細胞之各成份中，屬於較穩定之分子，故其適合於多種類型樣品的檢驗，但在食物樣品中，除 DNA 外常存在著各種複雜的成份，包括多醣、脂質、多酚化合物 (polyphenols) 及其他等，可能會降低檢驗方法之檢出效果，例如 PCR 中 Taq polymerase 便會受到多醣、離子螯合劑、酚類及界面活性劑的抑制。故以 DNA 為檢驗目標時，通常會將 DNA 自樣品中純化出來 (施宗偉，2002)。

(二)、聚合酶鏈反應 (polymerase chain reaction，簡稱 PCR)

PCR 為一能檢測出「少量」核酸，且具有「高專一性」與「高靈敏度」之檢驗方法。

1.PCR 的原理：

PCR 是一種使特定 DNA 片段大量複製的技術。利用 PCR 針對基因改造部份的 DNA 片段進行複製，如果 PCR 的結果可以獲得該片斷的 DNA 複製產物，即代表檢體含有欲檢驗的改造基因；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改造基因 (黃心穎，2003)。

2.PCR 的方法：

首先，先設計出針對外來轉殖基因的序列（sequence of foreign gene）具有專一性的引子對（specific primer set），然後以此一組引子，在一含有待測檢體 DNA（DNA 模板，DNA template）、DNA 聚合酶（DNA polymerase）、四種去氧核苷三磷酸（dNTP），在特定反應溫度條件下，包含變性（denature）、煉合 annealing）、延展（extension）等三步驟，不斷利用 DNA 進行數回合（cycles）循環反應，使外來轉殖基因的 DNA 特定片段大量複製。

在複製過程中，該外來轉殖基因特定 DNA 片段的數量以二倍數增加，經數回合反應後即得到大量的外來轉殖基因特定 DNA 片段。最後將反應物以洋菜膠體電泳分析（electrophoresis），特定片段在電泳分析時很容易被偵測到（黃心穎，2003）。

根據統計，轉殖基因設計中最常採用的轉錄啟動子 P35S 及轉錄終止子 TNOS 分別取自於植物病毒 CaMV 及植物病原菌農桿菌，因此在初步篩選時可針對此 DNA 序列進行 PCR 反應(曾美菁，2004)。

二、基因轉殖生物簡介：

以基因剔除(gene konckout)或是基因重組(gene recombination)等技術，對生物體進行人為的基因改造（牛惠之、郭華仁，2005）。

（一）、將基因重組科技的歷程：

早期的基因轉殖生物尤其以基因轉殖農作物發展最快的領域，以改造作物的生長性狀為主，稱為第一代的 GMOs，例如：僅針對作物進行抗旱、抗蟲的簡單改變，已有大豆、玉米、蕃茄、馬鈴薯等轉殖作物問世。基本上，第一代的 GMOs，作物的實際組成成分並無改變，這也是基因轉殖作物的主要開發及生產國－美國，認為基因轉殖作物與傳統育種作物並無分別的原因，即所說的「實質等同」（substantial equivalent）

(施宗偉，2002)。

發展中階段則是以改良作物成分為目標增加一些功能性，稱為第二代的 GMOs，例如添加維生素 A，以防止夜盲症的黃金米及蕃茄疫苗等。但發展中與即將商業化的第二代的 GMOs，其成分及營養組成，與傳統作物必定有明顯的區別，而不再視為實質等同，因此造成的衝擊及產生的爭議將更為巨大(施宗偉，2002)。

而現今正在研究的第三代 GMOs，利用多個基因轉殖技術，大幅改變動植物的特性，主要用在醫藥，稱為第三代的 GMOs 例如轉殖生長激素基因的鮭魚等，但目前多處於研究階段，尚無此類基因改造食品正式上市(施宗偉，2002)。

(二) GMOs 重大議題探討

1. GMO 的食品安全

在第一代 GMOs 的食品安全中產生爭議，最大的疑慮在於，這些殺蟲的蛋白質或是讓植物延遲後熟的蛋白質，人食用後是否會有安全上的疑慮，基因轉殖作物研究至今只有 20 於年的歷史，是否會似 DDT(殺蟲劑)在使用後 50 年才發現，對生態環境有影響，所以一般社會大眾依然對「實質等同」的第一代 GMOs 抱持著懷疑的態度，這也是基因轉殖作物備受爭議的一大問題，因此確實的標示在基因轉殖食品中佔很重要的一環(牛惠之，2004)。

2. GMO 引發的宗教倫理問題

科學家扮演上帝，成為新生物的創造者與存留物種的選擇者，對人類信仰產生莫大的衝擊，基因改造違反了自然(牛惠之、郭華仁，2005)。

3. GMOs 的經濟問題

對於全球國際貿易引發了「重大國際貿易障礙」與「環保條約」之衝突及「跨國生技公司貿易壟斷」的問題，依造「商業利益」、「環

保勢力」與消費者的認知各有所不同（尤浚達，2004）。

(三) GMOs 的相關法規及標示

由於各國對基因轉殖作物的法規有所不同，故在國際貿易間引發基因改造食品的標示問題的爭議，目前聯合國「生物安全議定書」中規定：進口直接供作食品、飼料或加工用之改性活生物體（Living Modified Organism, LMO）應於文件中，明確說明其中「可能含有」LMO，惟現階段並未強調原料或加工食品之標示（陳彥傳，2001）。

三、基因轉殖作物的未來展望

近年來，工業科技發達，但是隨著石油危機以及能源耗損過量。因此生物技術應用在工業上，造成許多基因轉殖微生物，對於工業酵素、化學原料、食品原料及生質能的生產等，有顯著的提升效應。

所謂的生質能是指將生物體的物質，利用生物科技，低成本所製成的再生能源；目前較常使用的生質原料為含有纖維素較多的甘蔗、玉米、稻稈和木屑等。在未來石油高漲的時代，由於基因轉殖技術使得農作物產量增加，生質能在未來是被看好的能源之一（龍騰二下生物課本）。

四、基因改造作物之現況

2002 年全球農作物的栽種面積約 2 億 6 千萬公頃，其中基因改造作物之栽種面積約 5 千 8 百萬公頃（22%），主要基改作物為玉米、大豆、棉花、油菜、南瓜及木瓜，其他包括番茄、馬鈴薯、甜菜、水稻、康乃馨、向日葵、菸草、小麥、菊苣、甜瓜及亞麻等共 17 種作物。大豆、玉米、棉花及油菜為全球最主要基因改造作物，栽種面積之比率分別為 62%、21%、12%及 4%，目前市售的基因改造作物以抗除草劑作物（75%）為主，其次為抗蟲作物（17%）（行政院農業委員會）。

(一)、抗除草劑轉基因作物之特性

第一代基因改造作物抗除草劑作物所抗之除草劑有嘉磷塞（glyphosate）、固殺草（glufosinate）、硫醯尿素類（sulfonyleurea）及

Bromoxynil 類藥劑。嘉磷塞為全球使用最多的萌後除草劑，於植體內具系統性傳導效果，可有效防治一年生及多年生雜草。美國的基因改造作物中，孟山都公司之抗嘉磷塞（RounupReady）大豆、玉米及棉花即佔各作物的 75、10 及 65%，為抗除草劑作物中的重要品系。抗嘉磷塞之大豆（GTS 40-3-2）、玉米（NK603）、棉花（MON1445）及甜菜（GTSB77）的抗藥基因，皆為農桿菌 *Agrobacterium* sp. strain CP4 的 EPSPS 基因（袁秋英、蔣慕琰，2004）。

（二）、嘉磷塞

嘉磷塞，為美國孟山都公司研發的除草劑商品中最主要的成分，故在耐性作物的研究中，將農桿菌（*Agrobacterium* sp.）CP4 植株中的 EPSPS（附錄一）基因轉殖於大豆，由於此 CP4 EPSPS 酵素對嘉磷塞的親和力低，且可與其受質 PEP（phosphoenolpyruvate，附錄一）緊密結合，在植物中可使相關生理功能（shikimic acid，附錄一）正常運作，所以轉基因大豆植株被噴施嘉磷塞時，仍可繼續成長，無任何傷害徵狀（施宗偉，2002）。

參、研究目的

基因檢測是將來對農產品、醫療、免疫……重要的檢測方法，基因轉殖技術被廣泛應用在農作物的生產，許多不同品種的基因轉殖作物也如雨後春筍般的出現。為了以基因檢測法檢測市面上常見的基因轉殖食品，是否含有基因轉殖作物，所以本實驗主要目的為：

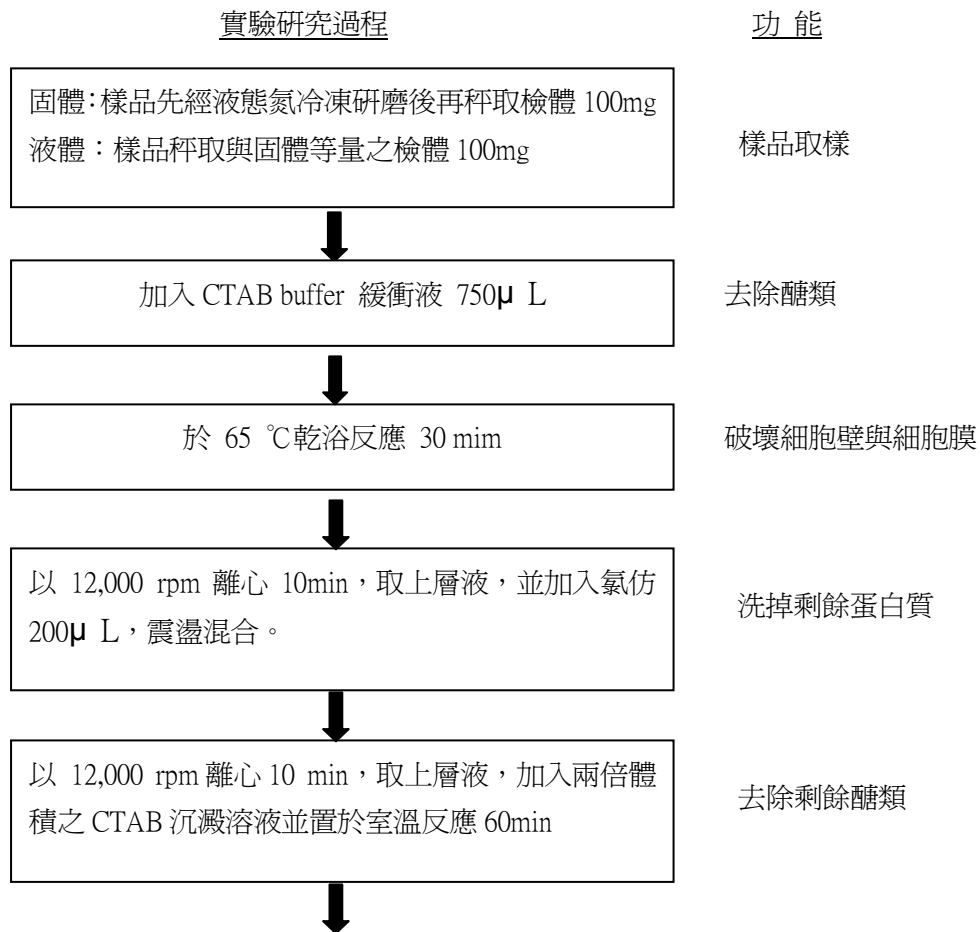
- 一、抗嘉磷塞大豆基因檢測的原理
- 二、以基因檢測法來檢測市面上大豆加工食品之結果
- 三、檢測的過程中受到什麼影響
- 四、了解基改作物之理論基礎、種類，並了解基改作物之法規及安全規定
- 五、探討基因轉殖食品的利弊及未來展望

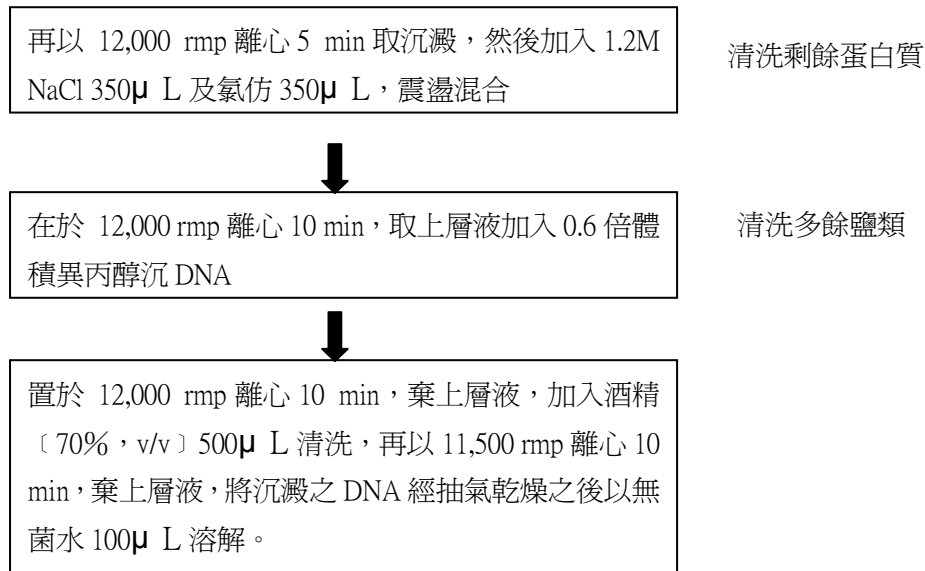
肆、研究過程

本實驗將市售的豆類產品，豆腐、豆漿、豆干、醬油……等，取常見的 23 種大豆加工食品作為本實驗樣本，以 CTAB (cetyltrimethyl ammonium bromide, 附錄一) 及市售試劑套組 (plant genomic DNA purification kit, 以下簡稱 kit) 兩種方法將 DNA 純化，並以定量純化後的 DNA 進行膠體電泳以檢視 DNA 是否純化成功。接著將經膠體電泳後的樣品進行 PCR，將所得的 PCR 產物以膠體電泳分析，並由產物大小來判斷是否為目標產物，故本實驗將分為四個步驟進行。

一、DNA 純化樣品 (CTAB 法及 kit 兩種方法)

(一)、以 CTAB method: DNA 之抽取與純化係採用 Lipp 等於 1999 年發之 CTAB 方法，而所有加工製品之 DNA 抽取方式亦類似。

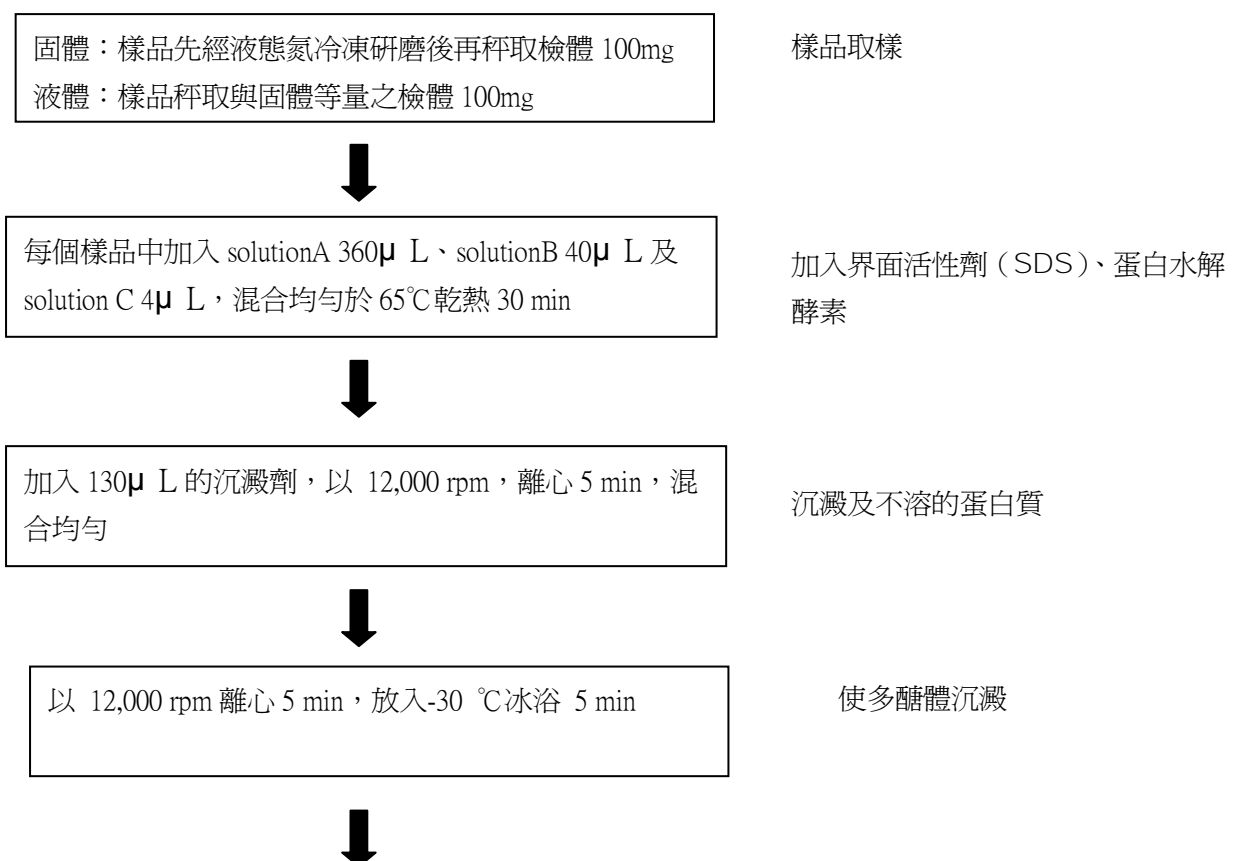


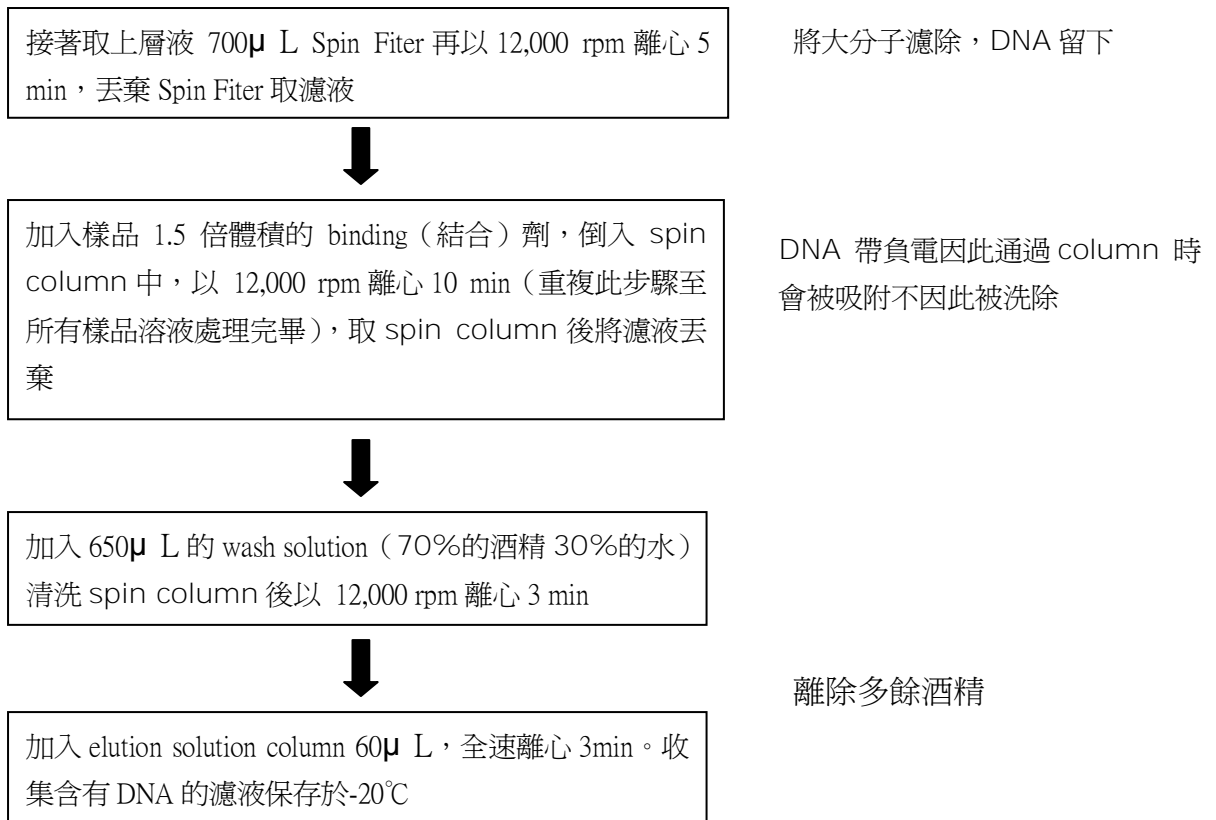


市售試劑套組在市面上有許多種，本實驗使用的是 Plant Genomic DNA Extraction Miniprep System 反應試劑套組，這樣的試劑組對使用者的好處是，方便且快速，約60分鐘即可得到結果，較一般傳統的 CTAB法約 240 分鐘。

實驗研究過程

功能





二、DNA 膠體電泳，確定 DNA 純化情形

將各樣品純化後的 DNA 分別取 5 μ L 和 bromophenol blue (藍色染劑) 混合注入洋菜膠體的樣品槽內(well)中，將 0.5 X TAE butter(緩衝溶液)加入電泳槽中，以 100 v 電壓進行電泳 30 min，以 ETBr 染色後於紫外光燈箱下照相分析，以電流促使其往正極移動，以區分其片段長度大小。

三、聚合酶鏈所反應 (PCR)：

PCR 反應試劑為 dH₂O 15.5 μ L、butter 2.5 μ L、dNTP 0.5 μ L、Taq DNA polymerase 0.5 μ L、引子對各 0.5 μ L、各樣品(23 項，包含 RRS 大豆)DNA 3 μ L，最終體積為 25 μ L。PCR 反應條件為：94 $^{\circ}$ C：3 min，再進行 94 $^{\circ}$ C：30 sec、55 $^{\circ}$ C：30 sec、72 $^{\circ}$ C：30 sec 共 40 cycles 後 72 $^{\circ}$ C：10 min。

四、PCR 膠體電泳：

PCR 後再進行 DNA 電泳確定 PCR 的 DNA 片段。

伍、研究設備及器材

一、器材與設備：

(一)、設備器材

1. 微量離心機一台
2. 離心機一台 (HEREMLE Z-300)
3. 1.5 mL 微量離心管 16 管
4. 乾浴乾熱器一台
5. 真空濃縮裝置

(二)、實驗材料

1. CTAB法：

- (1). CTAB buffe 750 μ L
- (2). 氯仿溶液 200 μ L
- (3). CTAB沉澱溶液 (5 g CTAB/L , 0.04 M NaCl) 600 μ L
- (4). 1.2M NaCl 350 μ L
- (5). 異丙醇200M1

2. kit：

- (1). Solution A 界面活性劑 (SDS) 360 μ L
- (2). Solution B 蛋白質分解酶 40 μ L
- (3). Solution C 含RN ase (分解RNA用) 130 μ L
- (4). 沉澱劑 (含醋酸鈉) 130 μ L
- (5). Spin filter 孔徑較大的過慮模 16管
- (6). Spin column 吸附DNA 16管
- (7). Bindmg solution 1050 μ L
- (8). wash solution (70%的酒精30%的水) 650 μ L
- (9). elution solution column 衝體 60 μ L

3. PCR (成分/管) :

- (1).*dH₂O* 15.5μ L (5).Taq DNA polymerase 0.5μ L
 (2).*butter* 2.5μ L (6).DNA 3μ L
 (3).*dNTP* 0.5μ L
 (4).引子對各 0.5μ L

(三)、純化 DNA 所使用的樣品：

本實驗將樣本分成「輕度加工」、「重度加工」及由美國孟山都公司 (Monsanto Co., USA)所提供的RRS大豆標準品作為實驗 marker 來比較。

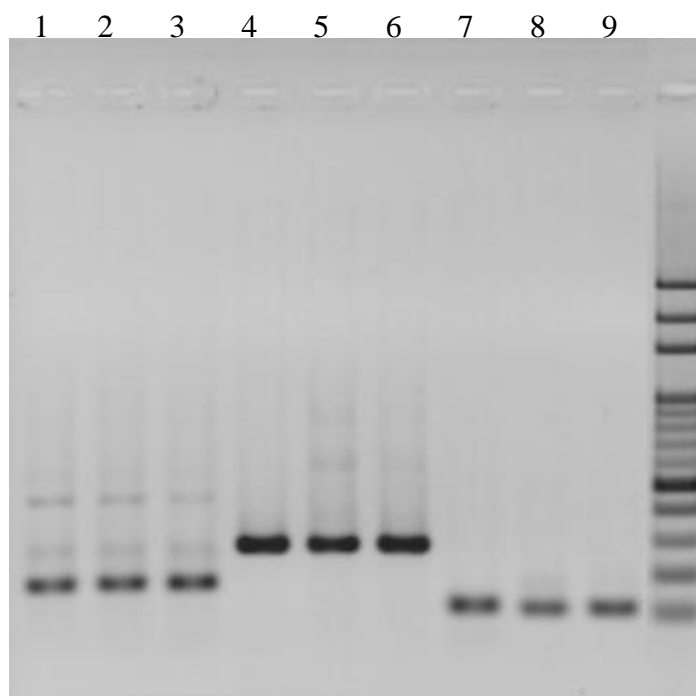
輕度加工	重度加工	RRS (R) (含Lec、T _{nos} 、P _{35s} 基因轉殖)
(1) 中華家常豆花	(11) 晟佑五香豆乾	(14) RRS大豆標準品
(2) 中華涼拌豆腐	(12) 黃日香香豆乾	(23) RRS大豆標準品
(3) 中華雞蛋豆腐	(13) 德昌豆乾	(24) RRS大豆標準品
(4) 中華豆花	(15) 宏昇豆腐乳	(25) RRS大豆標準品
(5) 統一紅豆大豆花	(16) 品品香醇豆腐乳	
(6) 統一高纖豆漿	(17) 高慶泉豆腐乳	
(7) 鮮純永和豆漿	(18) 工研味噌	
(8) 光泉鮮豆漿	(19) 信川味噌	
(9) 義美豆奶	(20) 十全味噌	
(10) 統一草莓蜜豆奶	(21) DIY黃豆粉	
	(22) 日本醬油	

註：5-10 號及 18-20 號樣品包裝上標示為 non-GMO，其餘樣品包裝上皆標示為 GMO。

陸、研究結果與討論

本實驗利用 DNA 檢測來得知這些樣本是否為基改作物，但以此方法來檢驗時，必須了解嵌入基改作物中的外來基因構成與序列，才可使用適合的引子對。一、耐嘉林賽大豆基因檢測的原理本實驗利用 PCR，加入引子 Lectin（大豆凝集素）基因，來辨別是否為大豆加工製品，及以 35S（轉錄啟動子）—EPSPS—NOS（轉錄終止子）三基因形成的 DNA 片段，來辨別此加工製品是否為含抗嘉磷塞的大豆基因轉殖作物。

前處理實驗將三組單一引子，分別為 LectinF/ LectinR、35S1/35S2 及 NOS1/NOS2，個別加入 RRS marker 中，再以 PCR 膠體電泳圖呈現，由圖一所示，測試品 1~3 含 Lectin 基因；4~6 含 35S 基因；7~9 含 NOS 基因(如圖一)，若有一樣本同時含有 Lectin、35S 及 NOS 的基因，則為抗嘉磷塞轉殖基因大豆，藉此以更加了解基因轉殖作物的辨別。



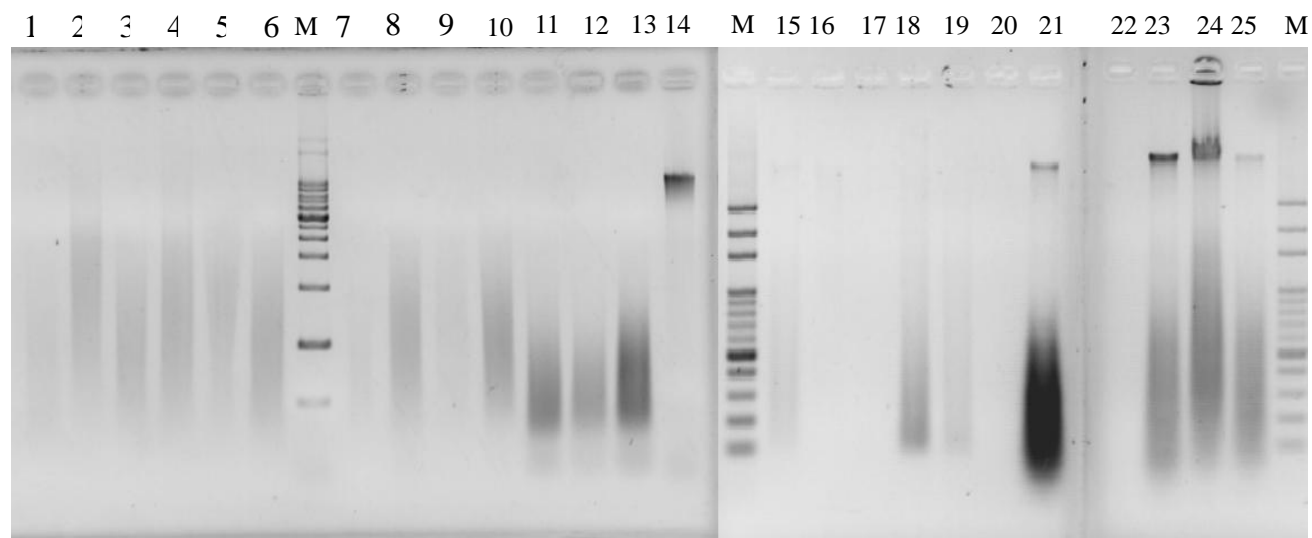
圖一：為引子對 Lectin、35S 及 NOS 的 PCR 膠體電泳圖（由 marker 可知 Lectin 基因的 PCR 產物序列長度約為 300bp、35S 的 PCR 產物長度約為 200bp、Tnos 的 PCR 產物長度約為 100bp）

二、以基因檢測法檢測市面上大豆加工食品之結果(如圖二)

含水量較高的，輕度加工食品 DNA 含量低，因此 DNA 以螢光染色後，在膠體電泳圖上所呈現的 DNA 片顏色則較淺淡（如 1、7、9）；而重度加工食品可能在其加工過程中使 DNA 受損，導致 DNA 純化的干擾較多，因此 DNA 以螢光

染色後於膠體電泳圖上的呈現，也會因 DNA 含量過低而無法呈現出 DNA 片段或易有雜訊(如 16、17、20、21、22)。

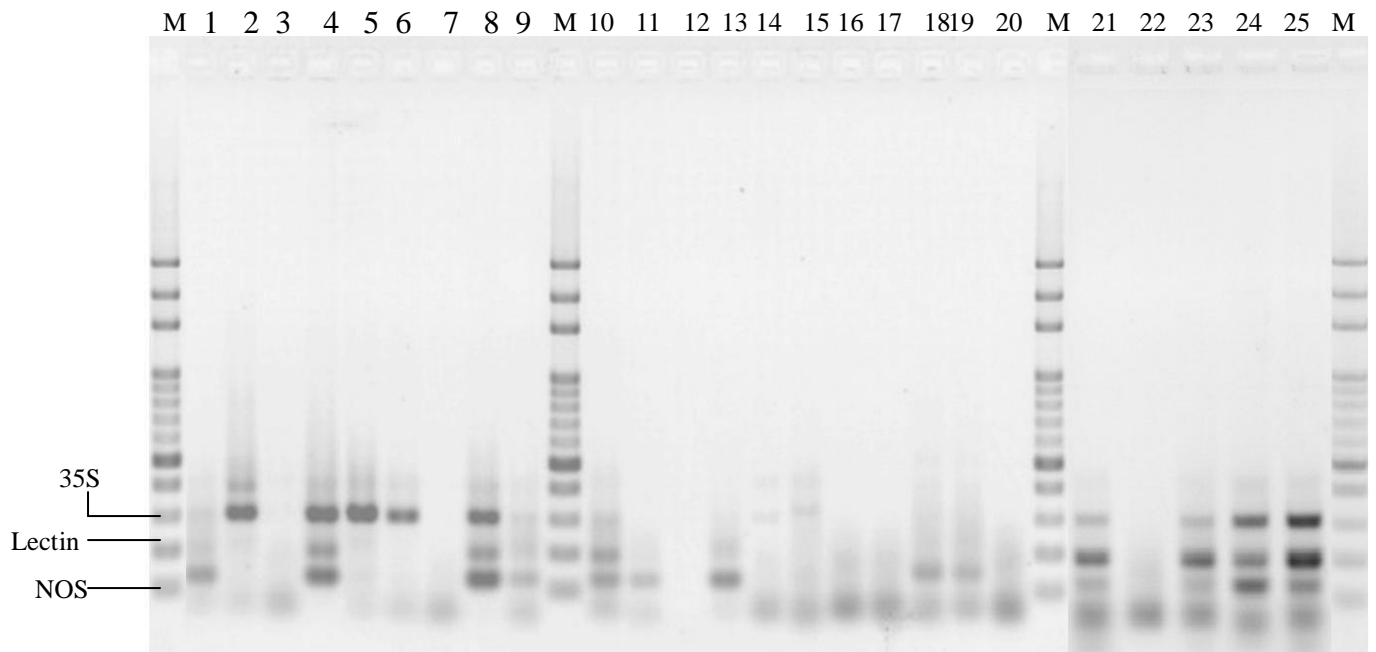
若 DNA 膠體電泳圖上沒有呈現出 DNA 片段，可能是 DNA 濃度過低，不表示該樣品的 DNA 純化不成功的。



圖二：樣品 DNA 膠體電泳圖

本實驗由便利商店、超商購得常見的大豆加工產品，作為實驗樣品，經 DNA 檢測之 PCR 方法檢驗 21 項樣品，由下圖三可知檢驗結果為：

- (1)皆含有大豆凝集素、35S 及 NOS(如 1、2、3、4、8、9、10、11、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25)表示這些樣品皆為基因轉殖的大豆加工食品
- (2)皆不含有大豆凝集素、35S 及 NOS (如 12、7)，表示這些樣品為無法檢驗出來，12 號的原因可能因為為豆漿，含水量過高；7 號則是重度加工食品，DNA 可能受損造成無法檢測出來。



圖三：為 1~25 號樣品 PCR 電泳圖

本實驗由市面上購得的 21 項大豆加工食品以及 4 項 RRS 大豆標準品(結果統計部分不予以討論)，以基因檢測法，抽取其 DNA 以 PCR 檢測是否符合包裝上的標示情形。可由圖三得知本實驗的檢驗結果，並統計出標示情形：包裝上標明，大豆為轉殖基因作物的有 12 件，本實驗檢驗結果得知 11 件符合標示，其中不符合的那一件(12 號)，為重度加工食品，推測可能是此樣品在其加工過程使 DNA 受損，以致無法檢驗出結果；而包裝上標明大豆為非基改作物的有 9 件，但經檢驗結果發現，9 件均為基改加工食品。

表一：結果統計表

檢驗樣品 21	標示情形	檢驗結果	符合標示
為基因改造大豆	12	17	11 件(91%)
非基因改造大豆	9	0	0 件(0%)

三、推測檢驗的過程中受到什麼影響

(一)、「取樣」：進行樣品取樣時，需隨機取樣，重複樣本數，且在取樣本檢測時，要避免雙手直接碰觸到樣品，以及小心樣品之間互相碰到，這會使樣品受到汙染，導致檢驗結果無法準確。

(二)、「加工」：樣品檢測，會受到樣品加工程度而有所影響，像是加工程度

過高的食品，檢測時會因為 DNA 受損而無法精準的檢測出來。另外檢驗的樣品，若是含水量過高的加工食品，也很容易在檢測時受到干擾。

(三)、「實驗人為誤差」：本實驗人員經過多次操作之後，才開始進行本實驗操作，以同一人操作同一處理，以避免人為誤差，並在較不確定之樣本重複操作，結果相同。

四、了解使用基改種類，並了解基改作物之法規

(一)、基改種類：由文獻得知基改種類的範圍很廣泛，包括了微生物、農作物以及動物等。

(二)、基改作物之法規：聯合國《生物安全議定書》(如附件一)

五、探討基改食品的利弊：

(一)、基因改造作物對人類的益處：增加農作物的產量，並且改良農作物的營養成分、食物的外觀、味道和口感，及成為替代性能源。

(二)、基因改造作物的缺失包含了生態平衡、對人類引起過敏的可能性、重大國際貿易障礙與環保條約之衝突、倫理問題以及安全性等等問題。

六、本實驗未來展望

(一)、利用核酸內切圖譜，來增加 PCR 結果之可信度。其方法是將限制酶切位序列包含於 PCR 產物序列之中，再將所得之 PCR 產物以限制酶進行酶切，並以電泳分析。

(二)、在進行 PCR 之前，先將上述各 DNA 純化方法所得之 DNA 樣品溶液以吸光法進行簡易定量，將樣品調整至所需濃度，使實驗方便進行。

(三)、尋找國內所有不同基改大豆，例如抗殺蟲劑大豆、添加營養物質的大豆等來進行檢測研究，以了解市場上所有大豆製品的標準及正確性。

(四)、探討了解其他基因轉殖農作物機改的形式，例如玉米、油菜、棉花等。

柒、結論

- 一、以基因檢測法，檢測樣品以是否含有大豆凝及素、35S（轉錄啓動子）及 NOS（轉錄終止子），來判別大豆食品中是否含有抗嘉磷塞基因（EPSPS）之轉殖基因大豆。
- 二、經檢驗結果，得知 91%的包裝上標示為基改加工食品的符合其包裝上所示，100%的包裝上標示為 non-GMO 加工食品不符合其包裝上所示。檢測的過程中，會受到實驗人員取樣、食品的加工程度以及人為操作等不同的影響。
- 三、基因改造作物種類主要是以大豆(62%)、玉米(21%)、棉花(12%)和油菜（4%）為主。
- 四、基因改造食品對人類健康「沒有立即的危險」。
- 五、利用基因轉殖技術使得農作物產量增加，將基改作物作為生質能的原料，而人類食用的作物則不要違反自然法則。

捌、參考資料

- 尤浚達，台灣基因改造作物發展模式分析，2003，P.14-19
- 牛惠之、郭華仁，基因改造產品: 發展、爭議、管理與規範 2005 ，P.16-19
- 施宗偉，豆腐乳、味噌及臭豆腐等食品基因轉殖成分檢驗方法之研究，2002，
P 1-27， P 40-50
- 袁秋英;蔣慕琰，抗除草劑基因改造作物之特性農政與農情期刊，140:87-90
- 高毓瑛，食品中基因改造大豆成分檢測方法之建立，2002， P 33-40
- 郭華仁、牛惠之，基因改造議題: 從紛爭到展望，2004， P 29-33
- 陳冠伶，利用多套式、半定量以及即時定量聚合酶鏈鎖反應複合限制酶作用
檢測基因改造 Bt 玉米及市售產品，2005， P 35-40
- 陳彥傳，由基因改造產品的貿易規範分析生物安全議定書與世界貿易組織的
潛在衝突，2001， P 14-15
- 曾美菁，利用半定量及即時定量聚合酶鏈鎖反應偵測基因改造大豆，2004，
P 13-16
- 黃心穎，以聚合酶鏈反應法檢測大豆及玉米中基因改造成分之研究，2003，
P 29-40
- 黃憲祿，開發 PCR 檢測基因改造食品的方法， 2002， P 19-27
- 潘子明計畫主持、施宗偉、黃心穎、黃佳嘉研究，以聚合酶鏈反應法檢測
基因改造食品之研究，2002，P 26-29
- Collection of official methods under article 35 of the German Federal Foodstuffs
Act. 1998
- Fuchs et al., 1993... ; Wood et al 1995
- Köppel et al., 1997

Lipp et al., 1999

行政院農業委員會 <http://www.coa.gov.tw/view.php>

行政院衛生署藥物食品檢驗局；GMO 面面觀
<http://gmo.doh.gov.tw/Web/subject/main.shtm>

美國哈佛基因晶片生技公司 http://www.ahgene.com/qna.phpqna_id=1

食品資訊網－基因改造 <http://food.doh.gov.tw/chinese/gmo/gmo8.htm>
食品

優質基因生技有限公司 <http://www.urgene.com/gene.htm>

附錄一 各專有名詞對照表

CTAB (cetyltrimethyl ammonium bromide)： 溴化十六烷三甲基銨。

CTAB buffer (緩衝溶液)： CTAB/L 20 g , NaCl 1.4 M , Tris/HCl 0.1 M ,
EDTA20 Mm 。

Tris/HCl：具有很強的 pH 緩衝效果，是常用的緩衝溶液。

EDTA：常用的金屬離子螯合劑，用來去除樣品中的金屬離子，因為許多核
酸分解酵素都須要金屬離子參與作用。

EPSPS (5-enolpyruvyl-shikimate-3-phosphate synthase)

glyphosa (嘉磷塞)：美國孟山都公司研發的除草劑

PEP(phosphoenolpyruvate)

shikimic acid(酵素)

附件一

一、聯合國《生物安全議定書》核心內容

(一)、關於提前知情同意程式

(二)、關於同意進口的決定程式

(三)、關於列明資料

(四)、關於進口擬作食物或飼料或加工之用 LMOs 的程式

(五)、關於風險評估

(六)、關於運輸、包裝和標識

(七)、關於賠償責任和補救

二、PCR 所用引子對

Table 2 Sequence of the primers used in PCR

Gene	Primer	Sequence5'-3'	Amplicon(bp)	Reference
35S promoter	35S-1	GCTCCTACAAATGCCATCA	195	a
	35S-2	GATAGTGGGATTGTGCGTCA		
CP4 EPSPS	EPSPS-B1	TGATGTGATATCTCCACTGACG	172	b
	EPSPS-B2	TGTATCCCTTGAGCCATGTTGT		
NOS terminator	NOS-1	GAATCCTGTTGCCGGTCTTG	180	a
	NOS-3	TTATCCTAGTTTGCGCGCTA		
Lectin	LE103	GCCCTCTACTCCACCCCATCC	509	b
	LE104	GCCCATCTGCAAGCCTTTTTGTG		

a、Lipp et al., 1999

b、Collection of official methods under article 35 of the German Federal Foodstuffs Act. 1998

c、Köppel et al., 1997

【評語】 040720

本研究擬用分子生物方法去鑑定市售大豆製品含基轉大豆的標示的真實性。在方法使用上有用心，但在數據表示上有很大的改進空間。