

## 專題報導

### 跨領域合作展成果-海大矽藻基因工程技術大突破

海大海洋中心促成生物科技(林翰佳研究室)與海洋生物(張正研究室)跨領域合作，順利引進矽藻基因轉殖技術，提升海大海洋分子生態研究水準。

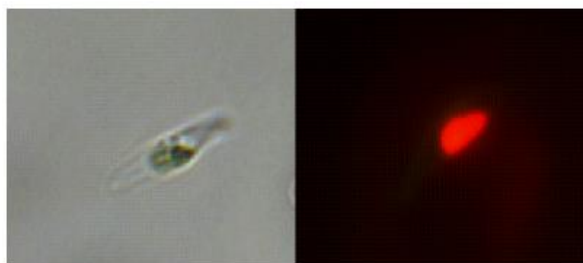
雖然矽藻 (Diatom) 只是微小的浮游藻類 (單一細胞大小從數十到數百微米)，但卻是海洋中最重要的初級生產者，而它們也肩負了地球 25% 的固碳作用，在地球生態上扮演了舉足輕重的角色。本校著名的東海研究團隊一直以來都有在長期監控台灣附近海域的矽藻生態，而本校海生所的張正老師更是國內首屈一指的矽藻研究專家。除了在海洋生態上的重要性之外，矽藻本身具有相當獨特的演化地位，兩次的內共生演化使得矽藻的基因組融合了動物、植物以及細菌的同源基因，這也使得矽藻的基因研究具有科學上的重要性以及相當的複雜性。



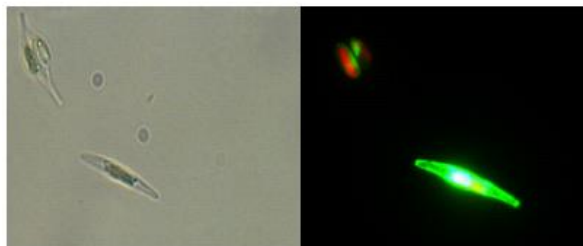
生命科學暨  
生物科技學系  
林翰佳副教授兼系主任



生命科學暨  
生物科技學系  
林宏運博士生



野生型三角褐指藻在螢光顯微鏡下，  
葉綠體發出紅色螢光



基因工程後的三角褐指藻，發出強  
烈綠色螢光，蓋住葉綠體螢光

這個初步的成功，激勵了跨領域團隊繼續挑戰更深入的研究。為了能更確定鹼性磷解酶等基因在矽藻的生理功能，就必須要建立矽藻的基因轉殖等分子操作工具。過去國內從來沒有人進行過相關的實驗，當然也沒有任何人可以請教。不過由於這項技術是相關研究上很重要的關卡，一定要想辦法突破。於是林翰佳主任先是寫信給德國康斯坦茨大學 (Universität Konstanz) 的 Kroth-Pancic 教授，成功地獲得矽藻基因轉殖的載體 pPha-T1。然後依照文獻所記載的方式開始試驗矽藻的基因轉殖。

大約五年前，張正老師為了實驗上的需要，急需找到方法來鑑定矽藻的鹼性磷解酶序列，因此找了生科系林翰佳老師一起討論，最後促成了一段相當成功的校內跨領域合作模式。林翰佳主任原本的研究專長是生物化學與基因工程，過去對於矽藻其實並不熟悉。但是為了完成張正老師囑託的任務，就指派了當時就讀生科系大三的林宏運同學前往張正老師研究室，從最基本的矽藻培養知識開始學起。而林同學也扮演了雙方實驗室的溝通橋樑，同時接受兩位老師的指導。這段時間，跨領域團隊定期舉行會議，進行文獻探討與實驗數據的討論。林翰佳主任自己也開始大量閱讀矽藻相關文獻

，並以自身的生化專長，指導林宏運同學建立了鹼性磷解酶的電泳活性染色方法，最後利用蛋白質體的技术，成功地鑑定出三角褐指藻的鹼性磷解酶序列。這項研究成果被刊登在知名期刊 Marine Biotechnology，而林宏運同學自己也因為這項研究而獲得 2012 台灣水產學會壁報論文第一名的獎勵。

# 海洋中心電子報

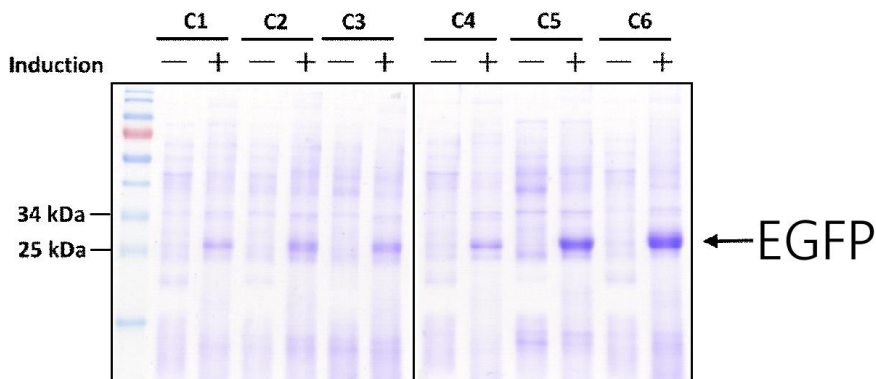
CENTER OF EXCELLENCE FOR THE OCEANS

不過很不幸地，經過一年的嘗試，仍然沒有得到很好的成果。此時張正老師建議，也許直接將就讀於博士班的林宏運同學送去國外學習，可以突破技術上的瓶頸。於是在張正老師的聯繫下，找到德國德勒斯登工業大學 (Technische Universität Dresden) 的國際級矽藻專家 Nils Kröger 教授，願意給予我們技術指導。在校方的經費補助之下，林宏運同學於 2014 年隻身前往德國學習了一個月。在矽藻基因轉殖實驗工作上，有許多操作上的細節並沒有寫在文獻上，因此實際獲得大師的指導確實得到了很大的幫助。而林宏運同學也不負眾望，在短短的一個月內就把相關的實驗技術都學會了，返台後也順利複製了在德國的學習成果。然後，終於可以在海大展開屬於自己的矽藻基因工程實驗了！

過去在矽藻基因工程的實驗雖然曾經失敗了整整一年，但是當時的失敗並不是沒有價值的。在那一年中，林翰佳主任的團隊仍然持續改造矽藻基因轉殖載體。在基因轉殖的技術問題解決了之後，先前建構的載體就可以立刻派上用場。在短短的幾個月內，很快地就產出了令人興奮的成果。現在林翰佳研究團隊所開發出的新型矽藻表現載體，可以在矽藻中表現出高量的重組蛋白。以綠色螢光蛋白為例，其表現量可以高達細胞內總蛋白量的 60% 以上。這樣的高效率表現系統，遠超過目前文獻上所報導的結果。未來，這項技術可以應用於生產複雜的藥用蛋白質以及酵素，具備很高的產業利用價值。

由於目前相關成果仍在準備申請專利的階段，現階段無法透漏太多的實驗細節。但若是校內老師在研究工作上大量重組蛋白質的需求，歡迎與林翰佳主任聯繫。林主任很希望能促成更多校內跨領域的研究，讓大家一起將海大的海洋特色研究，推升到更高的境界。

PS. 林翰佳研究室臉書粉絲團，內容有需多有趣的科普文章介紹，歡迎大家前去按個讚  
<http://www.facebook.com/hanjialab>



隨機挑選的六株基因工程矽藻 (C1~C6) · 其中 C6 被誘導表現的 EGFP 重組蛋白含量高達細胞總蛋白的 60% 以上。

※本研究發表於：

Lin HY, Shih CY, Liu HC, Chang J, Chen YL, Chen YR, Lin HT, Chang YY, Hsu CH and Lin HJ\* (2013) Identification and characterization of an extracellular alkaline phosphatase in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Marine Biotech.* 15, P425-436

## 中心業務報告

海洋中心核心儀器室-流式細胞儀 Flow cytometry (BD biosciences Aria) 儀器謹已於 6/9~6/16 進行設備升級操作，並於 6/22 辦理儀器教育訓練教學，另於 7/8 舉辦英語儀器教育訓練教學。