



台大醫學院第一共研電子報

100年10月 第6期



最新公告：請密切注意本中心於3/5開始贈送紅色螢光可標的細胞膜的質體



本期目錄

- 生醫資源中心介紹 P2
- 人類疾病模式生物中心介紹 P8
- 專題報導：CsCl Preparation of Plasmid DNA P14
- Biacore T200（已經購入第一共研14F，歡迎使用） P18



下期預告

介紹細胞分選核心實驗室

本期編輯：詹琍婷 林海寧 詹欣芳

編輯委員：李芳仁 鄧述諄 吳明賢 林淑華 林泰元

生醫資源中心

BioMed Resource Core

1. 地點：醫學院基礎醫學大樓R1438 & R1439

2. 開放時間：週一至週五 9:00~17:00

3. 使用資格：以本校各科系所實驗室(或計畫)
及附設醫院各科部負責人為主

4. 服務項目：

A. 提供索取生物材料

B. 提供相關技術支援服務

C. 人類疾病模式生物中心服務平台

D. 定期作貴儀的品質控管：real-time PCR，和 Biacore T200。

◎ 生醫資源中心目前所收集之生物材料種類：

一、各種基因功能分析之質體、載體：（567個）

- (1) 可於細菌、昆蟲及哺乳動物細胞中表現之質體
- (2) 可於細胞膜、細胞核、粒腺體...等特定位置標定之質體
- (3) 可表現CFP、GFP、YFP、RFP...等質體
- (4) 各種基因功能分析之質體
- (5) 可表現各種siRNA、miRNA之質體
- (6) Adenoviral、lentiviral及retroviral vectors
- (7) 酵母菌相關之各種質體

二、細胞株：（213個）

- (1) 各種適用於轉染及表現特殊蛋白質之細胞株
- (2) 哺乳動物之肝癌、乳癌、腸癌、淋巴瘤...等細胞株
- (3) 血液及神經相關細胞

三、微生物：（74個）

E.coli competent cell，Staphylococcus及Streptococcus之標準菌株

五、Yeast two-hybrid cDNA library：9 種

1	Human Fetal Kidney Matchmaker™ cDNA Library
2	Human Fetal Liver Matchmaker™ cDNA Library
3	Human Lymphocyte Matchmaker™ cDNA Library
4	Human Pancreas Matchmaker™ cDNA Library
5	Human Ovary Matchmaker™ cDNA Library
6	Mouse Liver Matchmaker™ cDNA Library
7	Mouse Testis Matchmaker™ cDNA Library
8	Mouse Kidney Matchmaker™ cDNA Library
9	Mouse Embryonic Fibroblast Matchmaker™ cDNA Library

四、抗體：310 種

來自各實驗室推薦的各種自公司購得及由院內老師實驗室自製之抗體

資料庫內容將不對外公開，加入會員即可來信要求瀏覽資料庫內容
請洽 陳美麟 小姐，分機 88283

自2010.06月起至2012.2.24止，共有101位醫學院與醫院的老師和醫師加入會員。

研究所		研究中心		學科	
臨床醫學研究所	2	光電生物醫學研究中心	2	寄生蟲學科	2
臨床基因醫學研究所	2	實驗動物中心		耳鼻喉科	3
分子醫學研究所	6	癌症研究中心		皮膚科	2
免疫學研究所	3	藥物研究中心		內科	10
口腔生物科學研究所	2			復健科	1
臨床藥學研究所	1			小兒科	2
醫學工程研究所	3			婦產科	2
解剖學暨細胞生物學研究所	3			眼科	2
生物化學暨分子生物學研究所	5			外科	2
生理學研究所	4			醫學研究部	1
微生物學研究所	10			檢驗醫學科	1
藥理學研究所	6				
病理學研究所	4				
法醫學研究所	1				
臨床牙醫學研究所	3				
藥學研究所	6				
醫學檢驗暨生物技術學系(所)	9				
轉譯醫學博士學位學程	1				
腫瘤醫學研究所					
毒理學研究所					
腦與心智科學研究所					
物理治療學系暨研究所					
職能治療學研究所					
護理學研究所					

◎技術支援服務項目

建構質體 (gene construction)

純化質體

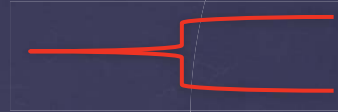


mini- /midi- kit

CsCl banding

篩選stable clone

純化蛋白質



BL21 (DE3)

Baculovirus

Yeast two hybrid assay

建構cDNA library



cDNA library

Genomic DNA library

組織細胞primary culture

提供實驗技術教學錄影帶

至2012/2為止已經完成執行的業務：

- (1) 純化yeast two-hybrid library，由於採購的library是在E coli內的型式，必須再利用CsCl banding的方式純化library。
- (2) 各種實驗方法的protocol建立。
- (3) 為本中心開發新的實驗技能，目前已經成功建立Yeast two-hybrid assay和Baculovirus expression system。
- (4) 5件利用Qiagen endotoxin free Maxi kit做質體純化，
- (5) 2件利用mini kit 做質體純化，
- (6) 6件利用CsCl banding的方式做質體純化，
- (7) 索取25種質體，
- (8) 6件gene construction，
- (9) 25個實驗室詢問生物材料，大部份實驗室是詢問cell line，目前尚未開放索取細胞株，所以目前是採用告知申請者哪些實驗室有可申請的細胞株，請申請者直接和願意提供細胞株的實驗室索取。

正在進行的業務：

- (1) 1件選殖穩定細胞株 (stable clone selection) ，
- (2) 1件酵母菌雙向雜交篩選 (yeast two hybrid assay) ，
- (3) 10件gene construction。

人類疾病模式生物中心

本年度於第一共同研究室成立「人類疾病模式生物中心」。成立「人類疾病模式生物中心」之目的為：提供容易操作、無倫理疑慮之「模式生物」，利用此模式生物研究疾病病因、治療方法，同時可以篩選藥物。目前「人類疾病模式生物中心」提供之「模式生物」為：

1. 酵母菌模式
2. 線蟲動物模式
3. 果蠅模式
4. 小鼠動物模式

共四種模式生物以提供醫學院區之研究同仁使用。

人類疾病的酵母菌模式核心實驗室

Yeast Core Facility for Human Disease Model

服務項目

- ☞ 諮詢及評估
- ☞ 基因改造
- ☞ 酵母菌雙向雜交篩選
- ☞ 特殊實驗需面議

諮詢及評估

- ☞ 鄧述諄 博士(微生物所)
- ☞ 林育誼 博士(生物化學暨分子生物學所)
- ☞ 李芳仁 博士(分子醫學所)
- ☞ 呂金盈 醫師(台大醫院檢驗醫學部)

人類疾病的線蟲動物模式核心實驗室

C. elegans Core Facility for Human Disease Model

服務項目

- ☞ 協助線蟲操作之基礎訓練
- ☞ 協助自國際機構(*C. elegans* Genetics Center / USA, National BioResource Project/Japan)取得基因變異或基因剔除之線蟲品系
- ☞ 指導或協助進行線蟲變異表現型之性狀分析
- ☞ 協助取得線蟲之核糖核酸干擾(RNAi)載體
- ☞ 指導或協助進行線蟲之核糖核酸干擾實驗

諮詢及評估

- ☞ 潘俊良 醫師(分子醫學所)
- ☞ 詹世鵬 博士(微生物所)

•人類疾病的果蠅模式核心實驗室

Drosophila Core Facility for Human Disease Model

服務項目

- 果蠅訊息傳遞路徑搜尋工具組幫忙尋找基因功能

諮詢及評估

- 李秀香 博士(分子醫學所)
- 吳君泰 醫師(分子醫學所)

人類疾病的小鼠動物模式核心實驗室

Mouse Core Facility for Human Disease Model

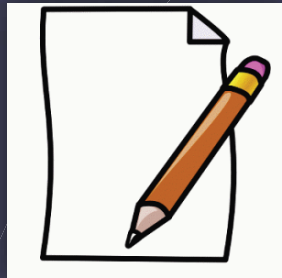
服務項目

- 協助完成基因剔除(KO)小鼠
- 協助完成基因置入(KI)小鼠
- 協助完成表現人類突變基因的小鼠
- 協助將自國際機構(KOMP, EUCOMM, NORCOMM etc.) 取得的基因剔除 ES 細胞株製成小鼠
- 協助完成條件式組織特異基因剔除小鼠 (Conditional KO)
- 提供雙螢光工具鼠 (Dr. 陳佑宗)
- 組織細胞分離及初代培養 (Dr.游益興)

諮詢及評估

- 黃祥博 醫師(醫研部)
- 陳佑宗 博士(臨床基因所)
- 游益興 博士、林淑華博士(醫技所)

如何申請模式生物技術服務



- ✎ 填寫申請書以電子郵件方式寄送至生醫資源中心信箱。(e-mail: ltjang@ntu.edu.tw)，
收件人：詹琍婷 博士，
分機：88931
- ✎ 得到服務成果之後，提供具可行性的下一步實驗計畫。

- ✎ 接洽實驗室，提供可行性與收費標準。
- ✎ 收費

- ✎ 分發至人類疾病模式生物中心之各實驗室。

服務項目收費標準

人類疾病的酵母菌 模式核心實驗室

- 諮詢及評估不收費。
- 基因改造：一個strain 2000元
- 酵母菌雙向雜交測試：一個測試500元

人類疾病的線蟲動 物模式核心實驗室

- 購買單一基因剔除線蟲，本核心實驗室協助觀察基本表現型。 NT\$ 600/strain
- 單一基因的RNAi knock down (挑到第二個世代的線蟲)。 NT\$ 800/clone or gene

人類疾病的果蠅 模式核心實驗室

- 1個疾病基因，49個是非題從開始做到完成，需要自行提供1個助理，每天約1小時，4個月，NT\$ 4000。

人類疾病的小鼠動 物模式核心實驗室

- 從DNA建構到得到 chimera小鼠： NT\$ 200,000 per case。

人類疾病的酵母菌模式核心實驗室運作

生醫資源中心作為人類模式生物中心的服務窗口。去年使用台灣酵母菌生物資源中心的名義向國科會申請101年度「生物資源整合與建置計畫」的補助，已獲得國科會一年期的部份耗材及人事費的補助。

目前以進行採購兩種 **yeast deletion collections**。(這兩種生物資源可以提供全校及全國實驗室申請索取)

Yeast deletion collection MAT_a

Yeast deletion collection MAT_alpha

收費標準：一個strain新台幣100元。

下單方式：

- a. 申請人將菌株申請表填妥後寄到e-mail：ltjiang@ntu.edu.tw或是傳真到(02)23911394 收件人：詹琍婷 博士；請同時來電確認，電話：(02) 23123456 ext. 88931/88341
- b. 申請單請填寫基因學名。
- c. 本中心材料備妥後發送取貨通知或自付郵費（黑貓宅即便）。

專題介紹

CsCl gradient for large scale plasmid DNA preparation



質體DNA(plasmid)是一種獨立於染色體DNA之外的環狀DNA小分子，通常只有數千個鹼基對，並且具有自行複製的能力。在生物技術的應用上，質體DNA常被用以選殖特定的DNA，以及表現特定的蛋白質。因應實驗者對質體DNA在數量和純度上的需求，目前已發展出許多抽取質體DNA的分法，例如使用有機溶劑萃取或是直接以商業化的套組進行純化。

自1998年開始，即有科學家利用密度梯度的方式，進行DNA分子的分離，並於之後漸漸發展出”CsCl banding”的技術。儘管花費較為昂貴且費時，以CsCl banding的方式抽取大量質體DNA，卻仍未被科學家捨棄，主要是由於此方法能獲得高純度且大量的supercoiled form DNA，當應用於細胞轉染(transfection)時將能帶來十分大的助益。

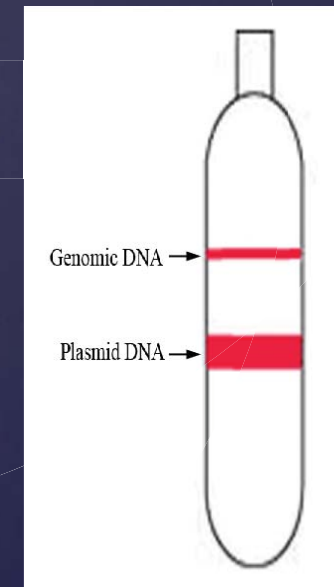
↳ CsCl gradient & DNA banding :

CsCl這類重金屬鹽類由於水溶性佳，且具有高密度(最高密度可達1.91g/ml)的特性，可在離心時形成梯度並具有良好的分辨率。當Cs⁺溶於水中時會下沉，同時也會擴散。但若是施以高速離心，加速Cs⁺下沉速度，超過擴散速度，Cs⁺會有部分下沉形成一個濃度的梯度（gradient），也就是密度的梯度。當DNA溶解於適當濃度的CsCl水溶液中，並以高速離心（如78000 rpm），則DNA會跑到離心管中某一相當於它比重的位置，形成一個帶狀。在這一位置中，CsCl溶液的密度等於DNA的密度，大約為1.7g/ml（而在同一溶液中，蛋白質的密度約為1.6g/ml，RNA的密度大約為1.8g/ml）。因此，所謂的banding即是將質體DNA透過高密度介質氯化銫（CsCl）在超高速離心（ultracentrifuge）下形成分離，質體DNA在超高速離心的氯化銫中形成單一個帶狀故名。

⌘ Ethidium Bromide & DNA banding

DNA結由於質體DNA與染色體DNA具有近乎相同的密度，因此即使在密度梯度中也難以被適當分離，而EtBr的使用恰巧可解決了這項問題。

除了AT/ GC的比值之外，分子的構型亦會影響其密度。由於EtBr為扁平的分子，它會鑲嵌入兩個核苷酸之間，使得雙股螺旋展開(unwind)進而影響了DNA分子的密度。由於supercoiled form的DNA會比linear form合較少的EtBr，因此透過EtBr的作用，更可拉大兩者之間密度的差距，以利其在CsCl所形成的梯度中，順利將兩種形式的DNA進行分離。



專題介紹

Biacore T200

預約使用請洽 Room 1438 詹琍婷 博士



人體內的分子間交互作用，與各種條件(濃度、人體分子構造、周圍分子狀態等)之間，呈現複雜的關係。為了理解這些系統，著眼於特定的物理化學現象，觀測、分析其交互作用，是一種有效的作法。

BIAcore 生物分子相互作用分析系統

是用在探測分子間相互作用的生物感測器，感應器表面的折射率變化將反映出重量。偵測出伴隨結合而產生的重量變化可捕捉結合/解離的速度。可在不需任何標定物的真實狀態下及時監視任何兩種**生物分子**間相互結合、解離的情形。結合動力學，反應專一性，親和力，活性濃度測定等。

生物分子的種類：

Proteins

Nucleic acids

Lipids & membrane-associated molecules

Carbohydrates

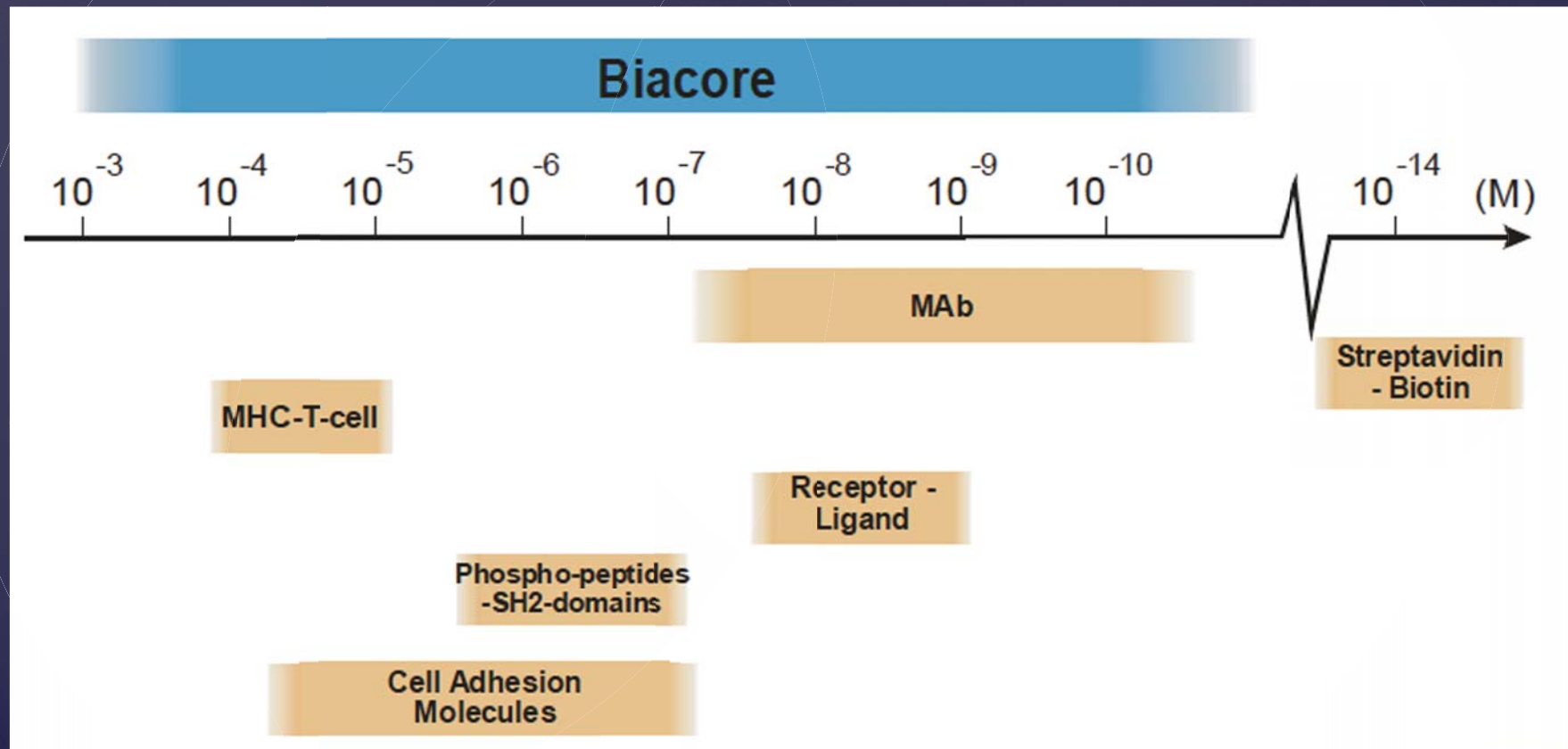
LMW compounds

Whole Cells

BIACore 應用範圍

- ✓ 分子間相互作用的特異性、動力學、親和力測定
- ✓ 小分子候選藥物、生物分子藥品開發、篩選、最佳化
- ✓ 生物藥製程的品質管理
- ✓ 臨床前/臨床的免疫抗原性試驗
- ✓ *in vitro* 早期藥物動態預測

Probing Biological Affinities



Comprehensive information from one system Analyze molecular interactions in real time and obtain a wide range of critical, binding-related data:

Detect

- Yes/No

Identify

- Specificity
- Binding partners
- Epitope mapping

Characterize

- Affinity
- Kinetics
- Active Concentration
- Thermodynamics