

出國報告（出國類別：參加國際學術會議）

第 35 屆歐洲生化聯盟(FEBS)會議

服務機關：台北榮民總醫院

姓名職稱：朱廣邦 研究員

派赴國家：瑞典

出國期間：99 年 6 月 26 日 - 7 月 1 日

報告日期：99 年 7 月 23 日

摘要

第 35 屆歐洲生化聯盟 (Federation of European Biochemical Societies, FEBS) 年會，於諾貝爾獎的故鄉瑞典哥德堡舉行。今年受邀演講者，有多位是諾貝爾得主，包括 2008 年化學獎得主、我國新科中研院院士錢永健博士，受邀為開場演講的貴賓。

自發展出綠色螢光蛋白等多種不同色螢光蛋白供細胞生物學廣泛的應用後，錢永健博士目前正在致力開發可專一性侵入疾病(如癌組織)之含 106 個胺基酸的 Single Oxygen Generator (miniSOG)，經核磁共振激發後，能以奈米之解析度在不同標的組織發出不同光色，目前已達可協助於周邊神經手術時需切除與避免切除部位，臨床應用亦指日可待。另外，2009 年諾貝爾獎得主 Elizabeth Blackburn 博士，演說染色體端粒 (telomeres) 與老化的關連性，近年來已透過對正常與癌細胞中端粒與端粒酶 (telomerase) 的了解，已發展出有助於設計癌症治療與預防策略，並對延長壽命提出具體的見解。

關鍵字: 歐洲生化聯盟、綠色螢光蛋白、Single Oxygen Generator (miniSOG)、染色體端粒 (telomeres)

目次

一、參加會議經過	4
二、會議重要內容	4
三、重要之參與心得	8
四、發表論文	10
五、考察參觀活動.....	10
六、建議.....	11
附錄	11

報告內容

一、參加會議經過

歐洲生化聯盟 (Federation of European Biochemical Societies, FEBS) 年會，今年於北歐的瑞典哥德堡舉行第 35 屆共同聯合會議，此為一個大型的學術研討會，舉行的日期為 2010 年 6 月 26 日至 7 月 1 日，與會學者眾多，除了歐洲大陸各國之學者與研究人員外，亦有來自南北美洲及亞澳等各國精英。瑞典是諾貝爾的故鄉，故今年受邀演講的大師，很多是諾貝爾化學或生理醫學獎得主，2008 年化學獎得主錢永健博士即受邀為開場演講的貴賓，錢博士當仁不讓，入選為今年的新科中研院院士。除此之外，會中也討論了有科學教育的課題，並安排有年輕研究人員與諾貝爾大師的討論會。歐洲生化聯盟年度大會的一些做法，不外用心培育下一代優秀的研究人員，值得我們借鏡。

會議今年於瑞典哥德堡的著名會議中心舉行，包含開幕、閉幕，其所有茶點，午餐的供應均由會議中心專業人員負責，欣見會議進行流暢，無不妥之處。值得一提的是會議中間的休息 coffee break，供應的不是常見的蛋糕或手工餅乾，而是各式各樣的水果，包括香蕉、蘋果、西洋梨和葡萄等，中午提供的飲料不是汽水而是啤酒，很獨特。

會中探討的學術內容，以生物化學、分子生物學及 omics 為主題，雖多以基礎研究為出發點，但重要發現皆與人類健康與疾病有密切關係，包含：健康與疾病，老化、染色體端粒的重要性、各胞器的功能研究，與系統分子生物學的研究等。

二、會議重要內容

歐洲生化聯盟是一個大型學術研討會，其內容主要包括：

- (1) **健康與疾病之分子研究**：包括老化、免疫、代謝疾病、神經和傳染性疾病，均是目前熱門的醫學研究課題；

- (2) **分子網路**：隨著基因體後時代的研究，不只著重於單一基因，而是概括整個細胞生物個體的整合網，內容包括代謝網路、訊息傳遞、整體網路、基因調控、蛋白功能調控；
- (3) **勞工分子**：包括分子機器、生物循環、胞外構造、膜的運輸和能量傳導；
- (4) **細胞生物學研究**：包括分泌路徑、粒線體、內胞飲、細胞核和葉綠體；
- (5) **生物分子設計和功能**：包括合成生物學、分子辨識、巨分子設計、摺疊和催化機制。
- (6) **特別主題**：包括教育與年輕科學研究者座談會，使年輕研究人員有機會能與諾貝爾獎大師面對面的對話。

附錄此次會議之重要議程如下：

Congress Program Highlight

Plenary Lectures

Opening lecture

Roger Tsien (UCSD; Nobel Laureate 2008)

Breeding and building molecules to spy on cells and tumors

Closing lecture

Venki Ramakrishnan (MRC-LMB; Nobel Laureate 2009)

What we have learned from structures of the ribosome

Special lectures

Elizabeth Blackburn (UCSF; Nobel Laureate 2009)

Telomeres and telomerases

John Walker (MRC Cambridge, Nobel Laureate 1997)

The mechanism and regulation of F-ATPases

Datta Lecture

Juleen Zierath (Karolinska Institute)

Gene/Environment influence on skeletal muscle insulin sensitivity in Type 2 Diabetic patients

Krebs Lecture

Harald Stenmark (Norwegian Radium Hospital)

How a lipid mediates tumour suppression

Bücher Lecture

Svante Pääbo (MPI Leipzig)

Analyses of pleistocene genomes

EMBO Lecture

Uri Alon (Weizmann Institute)

Design principles of biological circuits

IUBMB Lecture

Susan Lindquist (Whitehead Institute)

Protein folding and inheritance of environmentally acquired characteristics

FEBS/EMBO WISE Award Lecture

Ingrid Grummt (German Cancer Research Center, Heidelberg)

Wisely chosen paths: Regulation of ribosomal RNA synthesis

Concurrent Symposia Sessions

A - Molecules in Health and Disease

A1 Ageing

A2 Molecular Immunology

A3 Metabolic Diseases

A4 Neurobiology

A5 Infectious Diseases

B - Molecular Networks

B1 Metabolic networks

B2 Signal Transduction

B3 Global Networks

B4 Gene regulation

B5 Regulation of protein function

C - Molecules at Work

C1 Molecular Machines

C2 Biological Cycles

C3 Extracellular structures

C4 Membrane Transport

C5 Energy transduction

D - Cellular Compartments

D1 Secretory pathways

D2 Mitochondria

D3 Endocytosis

D4 Nucleus

D5 Chloroplasts

E - Biomolecular Design and Function

E1 Synthetic Biology

E2 Molecular Recognition

E3 Design of Macromolecules

E4 Folding

E5 Catalytic Mechanisms

Congress Workshops

Sequencing technology

Life imaging

Protein expression

Proteomics technologies

Dynamic modeling

Lipidomics

Metabolomics

Protein interactions

Network modeling

Protein structures

Molecular imaging

Bioinformatics

FEBS working group sessions

(Included tutorials, corporate Seminars, press Meeting, public activities)

Education Events

1. The Researching, Teaching and Learning Triangle at Universities: Unite or Divide?
2. Research-Oriented Education at High Schools

Practical System's Biology

1. An Introduction to Mapping and Modelling of Cellular Signal Transduction"

Science and Society

1. Biofuels are more than fuels"

Women in science: "Gender in Science."

三、重要之參與心得

開場的演講者是由我國新科中研院院士，也是 2008 年諾貝爾化學獎得主錢永健 (Roger Tsien) 博士，演講的題目是「Breeding and building molecules to spy on cells and tumors」。

自從發展出綠色螢光蛋白 (Green Fluorescence Protein, GFP) 等多種不同色螢光蛋白供細胞生物學廣泛的應用後，錢博士研究室目前正在致力開發基因編碼的標籤，可用於電子顯微鏡，含 FMN 光接受子先以遺傳工程技術接到含 106 個胺基酸的 Single Oxygen Generator (miniSOG)，當以藍光激發可以有效產生 $^1\text{O}_2$ ， $^1\text{O}_2$ 將 diaminobenzidine 聚合，使電顯產生奈米般空間之解析度，解析度較傳統的金屬有更好。相關的分子黏著分子 SynCAM1 和 SynCAM2 與 miniSOG 融合後，主要位於哺乳動物中央神經系統前突觸和後突觸位置。MiniSOG 於電顯之應用，如同綠色螢光蛋白 (GFP) 於光學顯微鏡細胞生物學之應用。於臨床上的應用，可以合成一特異分子，此分子可以專一性之導向癌組織，可活化細胞滲入胜肽 (activatable cell penetrating peptides, ACCPs)，其細胞攝入縮小為抑制區域多陰離子，多陰離子與多陽離子區域以 peptide linker 銜接，藉由蛋白酶作用回復活性。例如：侵入性腫瘤分泌之 matrix metalloproteinases 酶可將 linker 切除，留於組織讓細胞攝入。ACCps 於 dendrimers 以 Cy5 或 Gd-DOTA 標定，以核磁共振螢光引導手術，化學治療藥物也可藉由 ACCPs 至腫瘤，蛋白酶 thrombin-可切除 ACCPs 堆積於動脈粥狀硬化塊。錢博士所發展之螢光胜肽，目前已達列可協助於周邊神經手術時需切除與避免切除部位，其地臨床應用亦指日可待。

來自美國的 2009 年諾貝爾化學或生理醫學獎得主 Elizabeth Blackburn，演講的

題目是「Telomeres and telomerase」，主旨為染色體端粒 (telomeres) 與老化的關連性，是目前熱門的研究課題。端粒可以保護與穩定染色體末端，於確保基因體的穩定性扮演重要角色。每一個端粒含簡單重覆性之 DNA 序列，與細胞蛋白因子結合組成 cap 確保染色體末端，沒有端粒 DNA 及其特殊方式的複製，染色體末端會愈來愈短，甚至於讓細胞停止分裂，最後導至細胞死亡，人類若想長壽，保持染色體端粒的長度是重要關鍵。端粒的長度，受細胞酵素端粒酶控制，端粒酶可以加長端粒也可以保護端粒。於正常與轉型(即癌化)細胞中對於端粒與端粒酶的了解，使人類健康可以增進，也可以對抗癌細胞。成人的端粒酶存在於許多正常細胞，但濃度很低，於人的一一生中，存在低濃度的端粒酶，可以更新細胞所需，包括免疫系統。端粒酶受到遺傳與非遺傳因素影響，端粒酶活性於免疫系統細胞受慢性心理壓力影響，端粒的維持不足，與罹患重要疾病，如癌症與心臟血管疾病等危險因子，由正常細胞至惡性癌細胞，端粒酶過度活化促使癌細胞生成。Blackburn 博士發現於癌細胞中高端粒酶活性，可以做為抗癌方法，於端粒酶設計有關癌症治療與預防策略。

今年一個全新的議題為「合成生物學」(synthetic biology)，於生物分子設計和功能的主題，來自瑞典的 Owe Orwar 博士演講的題目是「Controlling the rates of biochemical reactions and signaling by shape-and-volume changes and surfactant nanostructures」。其他重要議題包括：有性生殖與老化是相關且為一體兩面的調控。性別於老化上也扮演重要角色，同樣來自瑞典的 Almroth 博士利用野生鱈魚族群探討此一問題，他口頭報告的題目是“Aging and oxidative stress in two populations of Atlantic cod fish: effects of commercial fishing”。密集的釣魚已使得族群遺傳漂移，導致鱈魚年輕時期性別突變，且個體較小。Almroth 等人以氧化壓力係數改變魚大小測量一些大魚組織與卵。樣品來自於遺傳相似但不同區域鱈魚族群，Kattegat 為拖網捕魚區；Oresund 為保護區，魚齡從 2-8 歲。他們的結果顯示雄鱈魚比雌魚於肝組織中有顯著較高的過氧化氫酶(catalyase)活性，不論雄魚或雌魚，過氧化氫酶活性均無年齡上的差異，兩區域所有的 glutathione (GSH)與氧化的 GSH 的降低均強烈與雄鱈魚

年齡相關，但於雌鱈魚則否。GSH 於卵中無影響，來自 Kattegat 的魚顯著的有較低氧化的 glutathione (GSSG)和過氧化氫酶活性，顯示此區域有早期成熟與較低的氧化壓力，肝組織中蛋白質 carbonyls 與脂質過氧化氫與年齡、性別無相關，Almroth 等人觀察到於卵中雌魚蛋白質 carbonyls 隨年齡有增加趨勢，此結果顯示年齡與母親的負影響，綜合來說，野生大西洋鱈魚性別差異於氧化壓力與潛在的負母性效應，以及族群中氧化壓力的差異。

四、發表論文

參加本次會議共發表了 2 篇論文，論文皆與中國文化大學動物科技系及生物技術研究所黃秋容副教授共同發表，在「基因表現」(Gene Expression) 一節發表，其中一篇也剛被 GENE 期刊接受發表，獲不少與會學者熱烈討論。論文題目如下，摘要則如附件〈一〉：

1. 論文題目：Transcriptional and micro-RNA regulation of *SPOP* in cancer cells.

作者：Kong-Bung Choo (朱廣邦), Chiu-Jung Huang (黃秋容), Wan-Yi Lin (林宛儀), Hsing-Yu Chen (陳幸妤), Shu-Ting Yeh (葉好婷).

2. 論文題目：Evolutionary expansion of *SPOP* and associated *TD/POZ* gene family via chromosomal duplication, retrotransposition and exonization of transposed elements

作者：Chiu-Jung Huang (黃秋容), Wan-Yi Lin (林宛儀), Che-Ming Chang (張哲銘), Yao-Hui Tsai (蔡耀輝), Kong-Bung Choo (朱廣邦)

五、考察參觀活動

哥德堡是瑞典第二大城市，位於瑞典西南沿海地區，左臨北海，人口約 50 萬人，

瑞典知名的汽車製造業 Volvo，以及造船廠即位於哥德堡，為瑞典重要工業，瑞典知名帆船哥德堡號目前即停泊於哥德堡的港口，供遊客參觀。哥德堡號是按照古時的商船建造的帆船，曾遠航至上海等地。哥德堡的交通便利，主要以電車為主，也有公車穿梭主要街道，公共運輸有便利交通網，很容易由地圖上找到，對於遊客來說，非常方便。

除了哥德堡號，哥德堡有一享譽歐洲最美花園頭銜的植物園 (Göteborgs Botanisk Garden)，園區占地 175 公頃，園中植物種類多達 2 萬種，其中包括 1500 種的蘭花。6~7 月為花開的季節，非常美麗，空氣中飄散著成熟的花粉，蔚為奇觀，但對於有呼吸道疾病的人，可能只好戴口罩了。

斯德哥爾摩為瑞典首都與第一大城，被認為是北歐最美的城市，由 14 個島嶼與 52 座橋樑所組成。斯德哥爾摩是阿爾弗雷 諾貝爾的故鄉，從 1910 年開始，每年均於斯德哥爾摩舉行諾貝爾獎頒獎典禮，位於斯德哥爾摩美麗的市政廳，是每年瑞典舉行晚宴，招待諾貝爾獎得主的地方。瑞典的官方語言為瑞典文，但大部份人都能口操流利的英語，由幾次導覽的參觀活動中，即可以發現他們對英語的使用，及表演的能力，使每一次導覽參觀，都是唱作俱佳，令人印象深刻，耳目一新。

六、建議

歐洲生化聯盟會議，每一次都會包含以教育為主題的議程，今年的議題以培養未來的科學研究人才為主軸。包括來自葡萄牙的 Lisbon 大學、英國的 Imperial 學院、巴西的 CAPES、澳大利亞的 Queensland 大學等科學教育家，發表了深入淺出的演說，這些研究型大學每年提供高額獎學金，給有興趣進行科學研究的大學生及研究生，訓練的不僅是實驗技巧，更包括思考的訓練與創造力。如：巴西的科學研究起步較晚，透過有效的科研教育體系，成效卓著。這些有關科學研究教育訓練的方案，很值得我們深思與參考。

附件〈一〉發表論文摘要

論文 (一)

Micro-RNA regulation of *SPOP* in cancer cells

Kong-Bung Choo^{1,2,3}, Chiu-Jung Huang^{4,5}, Wan-Yi Lin¹, Hsing-Yu Chen^{1,2}
& Shu-Ting Yeh^{1,2}

¹Department of Medical Research and Education, Taipei Veterans General Hospital, Shipai, Taipei; ²Graduate Program, Department of Biotechnology and Laboratory Science in Medicine and ³Institute of Clinical Medicine, National Yang Ming University, Shipai, Taipei, Taiwan; ⁴Department of Animal Science and ⁵Graduate Institute of Biotechnology, Chinese Culture University, Yang-Ming-Shan, Taipei, Taiwan

ABSTRACT

SPOP, speckle-type POZ protein, is a highly conserved protein found ubiquitously in human tissues, and has been shown to down-regulate the pancreatic transcription factor, PDX-1, in pancreas development. *SPOP* also participates in protein ubiquitination and degradation. This study aims to investigate regulation of *SPOP* expression. When real-time RT-PCR was performed to determine relative *SPOP* mRNA levels in a number of human cancer cell lines, a 14-fold difference was observed between different cell lines with the breast cancer MCF7 and cervical cancer SiHa cell lines expressing the highest and the lowest *SPOP* mRNA levels, respectively. Moreover, western blot analysis indicated relatively constant *SPOP* protein levels in all the cell lines analyzed except for the colon cancer cell line SK-CO1 which showed very low *SPOP* protein levels suggesting post-transcriptional regulation. miRNA database searches of the ~1.5-kb 3'-UTR predict involvement of miRNAs 106 and 145 in *SPOP* regulation which was verified by luciferase reporter assays and direct miRNA knockdown and over-expression in selected cancer cell lines.

論文 (二)

Evolutionary expansion of *SPOP* and associated *TD/POZ* gene family via chromosomal duplication, retrotransposition and exonization of transposed elements

Chiu-Jung Huang^{1,2}, Wan-Yi Lin³, Che-Ming Chang¹, Yao-Hui Tsai³
& Kong-Bung Choo^{3,4,5}

¹Department of Animal Science and ²Graduate Institute of Biotechnology, Chinese Culture University, Yang-Ming-Shan, Taipei; ³Department of Medical Research and Education, Taipei Veterans General Hospital, Shipai, Taipei; ⁴Graduate Program, Department of Biotechnology and Laboratory Science in Medicine and ⁵Institute of Clinical Medicine, National Yang Ming University, Shipai, Taipei, Taiwan

ABSTRACT

Evolutionary expansion of a gene family may occur at both the DNA and RNA levels and may involve the highly abundant transposed elements (TEs). The rat testis-specific *Rtdpoz-T2* and *-T1* (*rT2* and *rT1*) retrogenes are members of the *TD/POZ* gene family which also includes the well-characterized *SPOP* gene. We have previously shown frequent TE exonization in *rT2/rT1* transcripts in developing embryos resulting in a complex set of transcripts as opposed to the relatively simple and TE-free transcripts in the testis. In this study, *rT2/rT1* transcriptional activation in cancer cells is demonstrated; the cancer *rT2/rT1* transcripts are structurally similar to the developmental transcripts in frequent TE exonization. An uncharacterized *rT2/rT1*-like *SPOP* paralog, designated as *SPOP-like* (*SPOPL*), and related retro-sequences have also been identified by sequence interrogation of the GenBank databases. Sequence alignment, synteny and phylogenetic analyses implicate that evolution of the *TD/POZ* family of genes and retrogenes from a common ancestor involves (i) at the DNA level: chromosomal segmental duplication and recruitment of TEs as tissue-specific promoters, and retrotransposition, and (ii) at the RNA level: TE exonization through alternative splicing to further expand the transcript population. TE involvement is particularly profound in embryonic and cancer cells and may have biological significance.

