出國報告（出國類別：國際會議）

會議/活動名稱

歐洲分子生物組織-非編碼基因體國際會議

服務機關：國立中興大學 生物科技研究所
姓名職稱： 唐 涵 博士班研究生
派赴國家：德國
出國期間：102 年 10 月 6 日 至 102 年 10 月 22 日
報告日期：102 年 10 月 24 日

摘要（200-300 字；簡要綜述此行目的、過程及成果，非登錄論文摘要）

本次行程主要目的是參與 EMBL 所主辦的國際研討會-非編碼基因體. 這次會議聚集了在此專業領域中,不論是動物或是植物以及微生物相關背景的學者們, 並且舉辦整整三天半的演講活動, 讓大家能夠在不同的模式系統中學習到更多專業知識與技術. 經由不同的目的與方法, 許多人報告了特別的實驗設計與資料分析方法, 部分的實驗室也同時發表了最新的實驗結果, 提出某段特別的非編碼基因體在特定環境下,以調控基因群的方式扮演了重要角色. 此外, 也有大約三百張的海報張貼, 由於大會的完善安排與指導, 此次會議能夠看到許多尚未發表的最新成果, 並且促進實驗室之間的交流與互動.

目次

目的----------IV
過程---------- V-IX
心得與建議---------- X
附錄----------XI

目的

原定計畫目標:

不設限制的多方吸收非編碼基因體相關知識, 試著尋找出能夠應用在自己研究上的方法與技術. 除了聽取演講之外, 在中間空檔積極參與與會人士的討論, 進而了解在演講之外所能夠吸收的知識與目前遇到的瓶頸, 另外也希望能夠增加自己在國際學術上的能見度. 此外, 藉由演講與海報成果, 了解自己的興趣所在, 並且密切與未來可能參與或是合作的實驗室聯繫, 希望能夠找到未來的合作對象與潛在工作機會.

主題: 非編碼基因體

緣起: 由於博士班初期曾經研究過在昆蟲病毒內的非編碼基因體, 而至今所做的研究中也預期未來可能找到的調控因子可能爲非編碼基因體, 故藉此機會學習此領域的技術與走向.

預期效益: 認識更多相關知識與技術, 並且透過與國外各個實驗室成員的交流與討論, 能夠更深入了解此領域的技術與未來走向.

達成事項: 認識更多相關知識與技術, 並且與此領域的工作者討論分析,了解其方法與面臨之困難. 此外, 也藉由演講與海報成果, 學習到許多新鮮的知識與技術, 對於未來極有可能踏入此領域的自己來說, 有大大的收穫與震撼.

過程

本次參與由歐洲分子生物聯盟所主辦的非編碼基因體國際會議，會議議程共計四天. 會議簡介如下: In the 50 years since RNA was identified as a central component in the flow of genetic information, it has become increasingly clear that RNA is more than a mere messenger and performs many diverse and interesting functions. RNAs are known to play central roles across numerous biological processes required for cell viability and function. Moreover, prokaryotic and eukaryotic genomes are pervasively transcribed to generated many additional RNAs with unknown functions, raising the question: What else does RNA do? 在過去五十年中，RNA 已經被發現並且在基因表現的過程中被視爲一個重要因子，除了已知的訊息 RNA 之外，也有大量證據顯示 RNA 在細胞生理以及基因表現等方面擁有更多元並且多功能的角色. 雖然已經知道 RNA 在許多生物過程中例如細胞活性會扮演關鍵的角色，但是在真核與原核生物的基因體中已經被發現的大量 RNA 中卻有大部分的 RNA 都是未知其功能的. 所以本次會議的主旨就是探討這些除了訊息 RNA 之外也會被轉錄出來的 RNA 的功能. 會議主旨: This symposium will explore the diverse, dynamic and multifaceted roles of RNA across a spectrum of cellular processes. Yet, framed in interdisciplinary discussion of the roles of non-coding RNAs with the aim of enhancing our understanding of gene regulation and function. Topics will include recent discoveries in the fields of prokaryotic and eukaryotic long and short non-coding RNAs. Collectively aiming to further understand the non-coding RNA transcriptional and regulatory landscape. 本次會議會探討在不同物種與細胞生理過程之中, RNA 的產量變化，在細胞之中的走向，以及其可能的功能性. 並且討論非編碼基因體在基因調控上所扮演的角色與功能. 議題會包括在原核或真核之中最新發現的非編碼基因體的大型資料庫分析，能夠更加幫助了解非編碼基因體的轉錄與調控機制.

從會議第一天下午(10/9/2013)開始, 有兩個 LNA 相關技術的工作坊, 藉由化學鍵結的方式,使得人工合成的 RNA 可以以更穩定的方式存在細胞內, 達到抑制或是觀察的效果. 在實驗操作上有非常大的幫助. 緊接著是第一個 session: The diversity of non-coding RNAs. 聆聽七場演講. 其中最有興趣的一場是: 主講人: Thomas Hasen, 講題: Nature RNA circles function as efficient miRNA sponges. 內容講述在原核生物中有一種長片段的單股 RNA, 會形成環狀的結構. 其特別的序列因爲與某一小片段 RNA 互補, 造成一旦這種 RNA 出現, 小片段 RNA 就會因爲序列的關係被牽制在環狀 RNA 上, 進而抑制小片段 RNA 的功能. 所以這種環狀 RNA 可以說是像海綿一樣, 具有吸收並且儲存小片段 RNA 的功能. 因爲之前從來沒有聽過這樣的 RNA 存在, 關於其存在與功能感到很有趣很新奇. 第二天(10/10/2013)早上九點開始第二個 session: miRNA function and mechanisms. 聆聽五場演講, 其中最感興趣的是主講人: Josephine Malmevik, 講題: Specific inhibition of miR-124 function improve spatial and working memory capacity in mice. 在此研究中, 講者團隊利用上述 sponge RNA 來抑制一段已經知道的小片段 miR-124, 發現其所受到調控的基因中, 大部分都和學習, 記憶, 以及神經傳導有關. 於是經由動物行爲實驗, 他們發現當抑制這段小片段 RNA 功能時, 小白鼠能夠更快的從迷宮之中走出, 也能夠更快記得食物會被放置的位置. 讓人不禁反思: 究竟爲什麼生物體會演化出這種抑制智慧發展的小片段 RNA?

下午開始是第三個 session: Non-coding RNA in prokaryotes 聆聽五場演講, 最有興趣的演講, 主講人: John van der Oost, 講題爲: DNA-guide DNA interference by prokaryotic Argonaute. Argonaute 是一個幾年前在真核生物中發現的蛋白質, 在小片段 RNA 合成過程中扮演關鍵酵素的角色, 在此演講中, 講者團隊發現了原核生物中的 Argonaute 能夠從外來質體 DNA 中取得一段 DNA, 進而利用這段 DNA 去進行外來質體 DNA 的去除. 算是一種新的原核生物去除外來 DNA 的免疫系統方法. 筆者後來有去詢問這個蛋白質是如何選擇或是辨識出外來

DNA 的序列的, 而講者的猜測則是這是一種自然而且隨機的機制, 細菌能夠分辨外來質體 DNA 之後, 再由 Argonaute 隨機取得一段 DNA, 造成質體 DNA 降解, 進而調控細菌體內的質體 DNA 數量.

第三天(10/11/2013)早上九點開始爲第四個 session: siRNAs and piRNAs: biogenesis and function. 聆聽六場演講, 最有趣的講題爲: Social RNA: interspecies small RNA-mediated communication in nematodes. 講者: Peter Sarkies. 這場演講是比較短的學生或博士後演講, 但是講述的內容非常有趣, 也在前一陣子以小篇文章的方式刊登在知名期刊上, 其講者提出由於線蟲能夠直接進食大腸桿菌, 所以目前實驗室在利用線蟲作小片段 RNA 功能研究的時候, 都是以餵食帶有小片段 RNA 載體的大腸桿菌來造成其基因抑制, 這也代表了在線蟲之間, 也很有可能利用小片段 RNA 來做溝通, 這種跨物種的小片段 RNA 也相當罕見, 是一個特別的機制. 但是其困難在於, 目前野生的線蟲比較難以研究分析其體內菌種與小片段 RNA 是否來自於細菌, 而這種小片段 RNA 又是否可以成爲線蟲之間溝通的管道則是下一個重要又有趣的問題.

第三天下午開始第五個 session: Transcriptional gene silencing. 總共聆聽六場演講, 其中最有趣的是 Roberto Bonasio 所演說的: Interaction between JARID2 and noncoding RNAs regulate PRC2 recruitment to chromatin. 在這次會議之中, 大部分的團隊會提出他們特別的方法來蒐集 sample, 並且介紹如何做分析與排除 false positive, 大範圍的資料庫分析雖然在一開始非常重要, 但是能夠往下一一作下去並且進一步了解其功能與機制才是最關鍵的. 這場演講中就很詳盡的說明了他們發現 non-coding RNA 能夠有專一性的與特定蛋白質結合, 並且因爲這樣的結合能夠吸引更重要的蛋白質 complex 過來, 進而調控基因體的結構與活性, 最後調控下游基因的表現. 在許多大範圍資料庫分析的演講之後, 能夠聽到專一的功能探討覺得很棒也很深入, 更顯示這個領域有許多地方都還在剛起步, 尤其是大片段非編碼 RNA 的功能性探討這方面.

第四天(10/12/2013)早上九點中開始 session 6: Structures and mechanisms. 共

聆聽四場演講. 最有興趣的演講是: The long non-coding RNA Pauper regulates the expression of both local and distal neuronal genes, 講者: Keith Vance. 這場演講中提到他們發現了 long non-coding RNA Pauper, 並且進一步的去用大規模基因體分析來尋找在整個基因體中與 Pauper 有互補的序列, 最後發現這些基因會因爲 Pauper 的過量表現或是缺失而被調控, 而這些基因有一些在 Pauper 位置附近,有一些則距離較遠,所以也同時證明Pauper可以調控近或遠距離的目標基因. 這是一個直接而且簡單的方法, 就找到了這段 RNA 可能的目標基因以及其可能的調控方式, 讓人印象深刻. 最後下午是 session 7: Long non-coding RNAs. 聆聽了六場演講, 最感到有趣的是: Genome regulation by long noncoding RNAs, 講者: Howard Chang. 這場演講概述了 long non-coding RNA 可以扮演的角色包括了平台以集合蛋白質作用, 或是和蛋白質結合之後指示蛋白質到作用區域, 所以這個演講提供了新的方法來找尋新的 long non-coding RNAs, 他們利用了跳躍子酵素, 正常狀況下會隨機插入基因體中, 但是主要會插在基因表現活性高的位置. 利用其插入位置, 能夠估算出哪些看似活性低的基因位置, 其實是有轉錄發生的情況, 再跟已知的基因表現位置作比對, 進而推斷出哪些位置其實是會轉錄出 long non-coding RNAs. 這是一個聰明的方法, 利用人人都覺得很麻煩很想要去除的跳躍子, 設計出一套可信任的實驗, 並且驗證此方法可行.

晚餐時段是大家做學術討論與認識彼此的時候,也因此可以多多交流彼此的狀態與實驗經驗. 第二天到第四天早上九點到晚上五點,都有安排這個領域中最頂尖的老師來做演講, 中間兩個晚上則安排了海報成果時間, 讓大家能夠有充裕時間去了解有興趣的海報內容. 其中包括環狀單股 RNA 藉由其與小片段RNA的互補性,能夠在細胞中可以被應用來當作小片段RNA的抑制劑, 以及如何分析大量RNA資料庫, 還有單股RNA在基因調控時所運用的不同機制都是在本次會議中學習到的新知識.

以下爲個人報告之內容摘要:

Light plays a pivotal role in regulation of many plant developmental events. In addition to the local light signal, it has long been known that light may systemically regulate many developmental processes. However, what is the molecular nature of systemic light signals, and how diverse the systemic light signals participated remains to be elucidated. To explore the complexity of systemic light signaling, we developed a system to separate the light conditions between inflorescence and rosette leaves by covering Arabidopsis inflorescence with aluminum foil. The expression profiling analyses revealed that light receiving in rosette leaves is sufficient to modulate gene expression in apex, which supports that the leaf-born systemic light signals may traffic to apex for gene orchestration. Further irradiation of rosette leaves with different quality of light showed that blue or far-red light may systemically trigger specific light-responses. Taken together, we proposed that at least two parallel systemic light signals may contribute to the long-distance light signals.

在植物的生長發育的調節上，光扮演了很重要的角色。在許多發育的過程中，除了在接受光照的區域會產生訊息反應外，不受光的部份受到系統性光訊息所調控的現象也早有所聞。然而，對於系統性光訊息的特性以及其調控生長的廣泛程度，至今仍未有詳細研究。爲了探討系統性光訊息的複雜度，我們建立了一套系統，以鋁箔紙遮蓋方式來分開抽出花芽與葉片的光照條件。全基因表現的結果分析顯示在吸收光照的葉片中能夠有效產生系統性光訊息，並且調控在黑暗的花芽基因群。顯示此光訊息可能是經過遠距離運輸到達花芽以調控基因。更進一步的利用不同種類的光照發現，不同的光源能夠促進不同的光訊息，並且遠距離調控相對應且不相同的基因群。整體來說，我們提出至少有兩種以上的系統性光訊息能夠在收光葉片中被促進合成，並且進一步的遠距離傳輸到花芽以調控基因。

心得及建議

本次出國開會感覺到 EMBO 組織的完善與嚴謹, 從事前的報名事項一直到交通與住宿的安排推薦都有相當完整的資訊. 尤其是在申請出國開會補助時, 與大會要求正式邀請函也得到立即的回覆, 非常的貼心而且有效率. 網站的架設與資訊的更新也都是最即時也很完整, 另外值得一提的是, 在會議前就收到了除非得到許可, 否則禁止拍攝海報與投影片的通知, 感受到大會很注重個人隱私與學術倫理, 也讓大家更樂意分享尚未發表的研究成果, 對於有幸參與會議的人來說, 增加了更多樂趣與開放的討論空間.

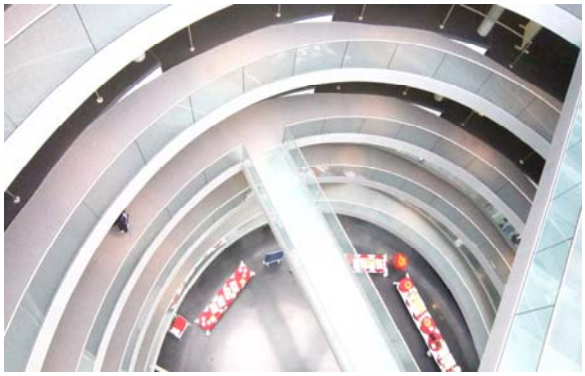
參與會議的過程中, 除了硬體設備的完善與專業之外, 整體空間的設計與動線規劃都非常清楚而且舒適, 若場地限制或是人爲因素沒有趕上進入演講廳, 外面也設置有同步大螢幕與同步演講設施, 讓人可以也能夠在外面參與演說, 並且更自由的選擇想要聽的場次. 另外, 演講廳外與大樓設施也都設有置物櫃與衣帽間讓大家能夠更輕鬆的參與一整天的學術活動.

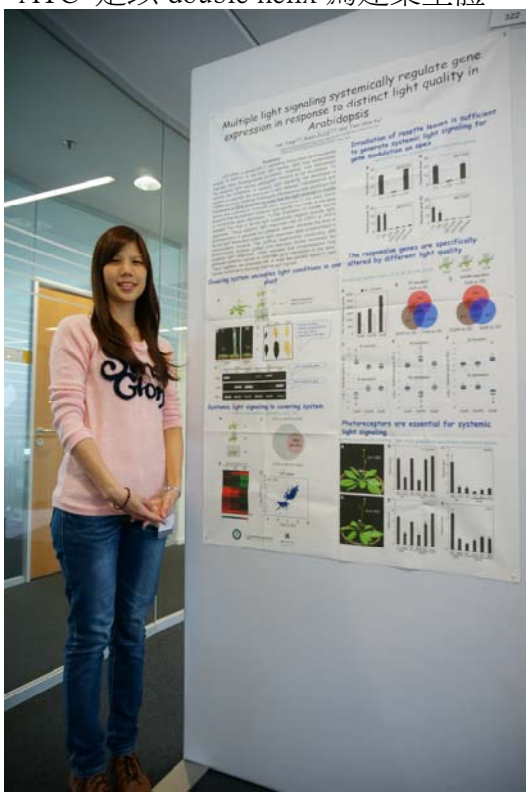
另外, 會議中提供的休息時間與用餐時間很足夠, 讓大家能夠找到機會在演講者有空檔的時候上前與其討論演講內容. 空間與座位的安排上也都非常舒適合宜, 讓大家能夠在開放空間隨意尋找想要討論的對象, 在交換實驗與技術的過程中都是非常寶貴的經驗. 此外, 由於會議地點在歐洲, 能夠遇到許多歐洲的學術界專業老師, 在討論過程中也都會給予學術環境與未來工作尋找的建議, 也會在輕鬆的晚餐過程探討學術界的發展與未來, 整體來說是一場相當專業與愉快的與會經驗.

唯一美中不足的是, 整天的行程是從早上九點開始直到晚上十點, 大會所提供的接駁車晚上都在十點整才發車, 對於住宿地點稍遠的人來說不甚方便, 到達住宿點的時間也可能因此拖延到晚上 11 點, 導致有些人必須於稍早時間自費坐公車下山, 所以唯一的建議是能夠多安排幾班接駁車早一點發車, 讓大家能夠更自由選擇下山的時間.

附錄

EMBO 的總部在海德堡山上



ATC 是以 double helix 爲建築主體

EMBO 的 Adance Training Center (ATC)