

出國報告（出國類別：研究）

赴浙江大學動物科學學院從事相關 合作研究報告書

服務機關：國立自然科學博物館

姓名職稱：顧世紅/研究員

派赴國家：中國大陸

出國期間：2023/05/24-2023/06/7

報告日期：2023/08/11

摘要

本次合作研究執行國科會“一氧化氮參與昆蟲蛻皮激素合成之探討”之計畫，該計畫主要探討家蠶腦內所分泌的促前胸腺激素(prothoracictropic hormone)及胰島素(insulin，在家蠶又稱 bombyxin)如何通過一氧化氮之訊息來影響前胸腺蛻皮激素的分泌，其研究之目標為了解蛻皮激素分泌及昆蟲生長與發育的生理機制。浙江大學動物科學學院為中國大陸家蠶研究領域之重鎮，本次合作對象動物科學學院王華兵教授為浙江大學的傑出青年學者，在家蠶蛻皮激素研究及代謝相關領域研究成果卓越，其系列研究成果均發表在 PLOS Genetics, Insect Biochem. Mol. Biol., Insect Mol. Biol., Mol. Ecol. 等國際著名學術期刊。通過此次與浙大王教授實驗室的合作研究，對圓滿完成上述國科會研究計畫助益很大。本次合作研究的目標主要是探討透過 CRISPR/Cas9 基因編輯，透過蠶卵注射，敲除 bombyxin-Z1 基因後，觀察對家蠶蛻皮激素合成及幼蟲生長與發育的影響，從而了解 bombyxin-Z1 之功能。未來將透過本次的合作研究與交流，進行進一步的相關研究計畫研擬與執行，期能促進更多國立自然科學博物館與中國大陸昆蟲學界的學術交流，以相互提升學術水準及產出高質量的學術論文。

目次

一、緣起與目的.....	4
二、過程與紀要.....	4
三、心得與建議.....	9

一、緣起與目的

胰島素訊息傳遞之研究為近年來昆蟲分子生物學領域十分熱門的主題研究，家蠶胰島素為第一個鑒定出相關結構的昆蟲腦內激素，之後的研究顯示，家蠶體內有 38 個胰島素基因，各個不同胰島素基因的表達量呈現發育及組織特異性，雖然絕大部分胰島素基因表達在腦內神經分泌細胞，但卵、卵巢及脂肪體也有表達特定的胰島素基因。筆者也在胰島素訊息傳遞之相關領域在國際著名學術期刊持續發表多篇學術論文，而 bombyxin-Z1 這一基因可能為參與家蠶發育的重要訊息分子為筆者近來提出的新觀點，我們之前的研究發現 bombyxin-Z1 基因表達量在休眠卵與發育卵差異顯著，可能參與了卵的發育及蛻皮激素之分泌，這些發現都為昆蟲生理學領域首次發現，具新穎性及極高學術價值，但因筆者實驗室沒有敲除家蠶特定基因的相關設備及技術(主要考慮因素為價格昂貴及使用人數少)，難於從事更深入的探討。而王教授實驗室前幾年購得極微量注射器等相關儀器，近年來也逐漸具備了敲除家蠶特定基因的相關設備及技術，透過蠶卵注射成功進行家蠶 CRISPR/Cas9 基因編輯，也發表了多篇相關學術論文。期能透過本次的合作可以相互取長補短，在解析基因功能方面取得突破性發現。另外，筆者曾在幾年前利用參加國際會議的機會，從王教授實驗室取得家蠶相關類胰島素生長因子一個，該因子對翅芽組織有促進細胞生長的功能，我們在臺灣也檢測了其對家蠶前胸腺的刺激效果，發現此一因子也會活化家蠶前胸腺。因此透過本次的合作研究也一併探討了相關主題的合作。

二、過程與紀要

2023/05/24

因在 5 月 24 日前筆者有私人參訪行程提前搭機至杭州，故 5 月 24 日第一天即首先與王教授商討後續近 10 天的工作計畫及內容，檢視所飼養之家蠶發育情形及配製相關的實驗試劑等。

05/25-06/04

主要的工作內容包括：雙元 sgRNA 的設計與合成，sgRNA 同源片段的制備、同源重組及雙元 CRISPR 載體的構建、TA 克隆與測序驗證、同源重組及雙元 sgRNA 表達載體之構建、顯微注射及熒光篩選等，由於其中某些工作相當耗時，故筆者及王教授事先都各自提前準備了

部分的工作，以提升合作研究的效率。我們使用的家蠶品種為 Nistari，顯微注射於產卵後 6 小時內進行，共注射近 500 粒，注射完畢，將卵於生長箱保護，每日觀察卵的發育狀態，移除死亡個體，經過 6-8 日後，觀察孵化情形，如有孵化的蠶，即給予桑葉，進行飼養。由於筆者停留時間短暫，後續相關實驗包括幼蟲之飼養、bombyxin-Z1 基因功能之分析等改由王教授與筆者以 WeChat 密切聯絡，由王教授的研究生繼續進行中。

06/05

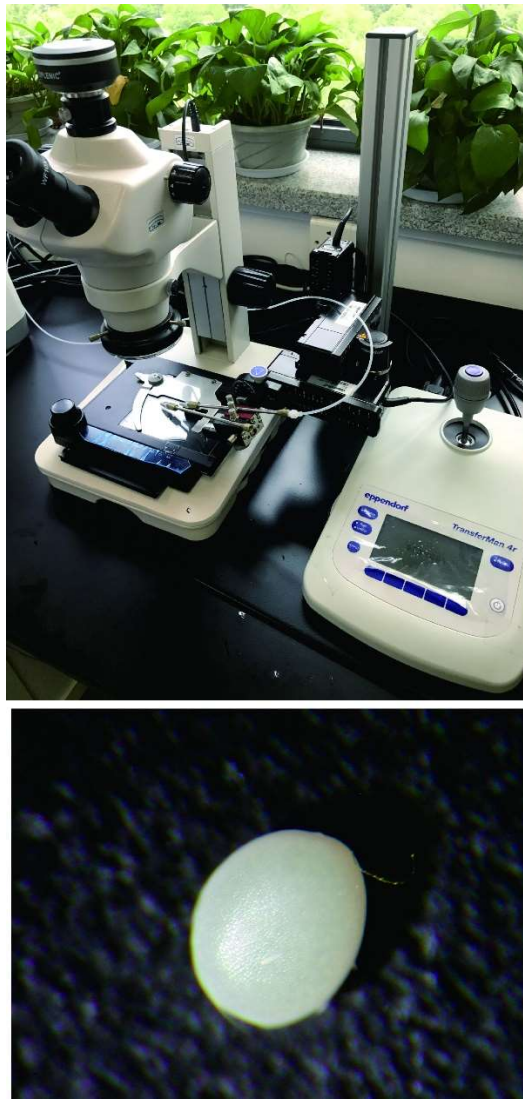
筆者近 30 年的研究工作主要為探討家蠶前胸腺，該內分泌腺體十分細小，需用解剖顯微鏡放在數十倍後方能完整取出，故利用此次合作機會也順便教導學生如何完整解剖前胸腺，為之後在家蠶前胸腺的合作打下一個基礎。

06/06

總結本次研究的主要結果及後續合作的規劃，後續我們決定由大陸的生技公司製作 bombyxin-Z1 抗體一個（在臺灣做一特製化抗體約需新臺幣 6-10 萬，但大陸僅需 3000 多人民幣，具一定的差價），最後商討了後續共同發表論文的可行性。

06/07

前往杭州蕭山國際機場搭機返回臺灣。



圖一、顯微注射用儀器及蠶卵。



圖二、從事相關實驗之蠶卵及幼蟲。



圖三、與實驗室學生一起從事相關解剖實驗及與王教授攝於動物科學學院(右上)。



圖四、浙江大學動物科學學院學生所使用之區域一角。

三、心得與建議

(1) 浙江大學為中國大陸一所歷史悠久、聲譽卓著的頂尖大學，學校注重精研學術和科技創新，建設了一批開放性、國際化的重要實驗室，在包括家蠶等昆蟲學領域彙聚了學術水準極高之研究團隊，實驗室教授、博士後、助理及學生從事研究工作都刻苦努力。學校在訂定碩士生及博士生取得學位以及新聘教師等方面都訂定有相當嚴格的標準。如在王教授所在的學科，碩士生畢業必須有 SCI 影響因子 (impact factor) 1 以上論文接受，新聘教師必須有影響因子 10 以上的學術論文發表等，這些都值得臺灣借鑒與參考。

(2) 通過此一合作研究，可以取長補短，增加切磋相關研究問題的寶貴機會，同時，也有助於了解學術研究之脈動及在相關領域的研究進程、拓展國際視野，期望在今後共同在頂尖國際學術期刊發表相關學術論文。建議相關單位增加學者間相互進行學術交流之機會，共同提升學術水準。