

出國報告（出國類別：研究）

赴美國喬治亞大學進行實驗及商借 暗視野顯微鏡特殊接物鏡

服務機關：國立中興大學植病系

姓名職稱：張宗仁 客座教授

派赴國家：美國

出國期間：2011/4/26~5/12

報告日期：2011/8/11

摘要

100 年 4 月 26 日早上張教授從台灣桃園機場出發經日本東京轉機於 4 月 27 日當地傍晚時間抵達美國喬治亞洲亞特蘭大 (Atlanta) 機場，出國前先以電子郵件知會 Dr. James Buck 討論實驗內容及此行目的，至美國期間返回喬治亞大學實驗室進行細菌培養及 DNA 抽取實驗，此行給我們機會得到 14 不同 stains 的 *Xylella fastidiosa* 的 DNA 分別代表原寄主葡萄，有桑樹、歐洲夾竹桃、桃子、李子、薄殼胡桃和無花果。這些近期才被分類於不同的 subspecies, 例如: *fastidiosa*, *sandyi* 及 *multiplex*. 這些 DNAs 在我們研究 pear leaf scorch strain 序列是否變異成為 *X. fastidiosa* 中新的 subspecies 中扮演非常重要的角色, 以及商借執行計畫所需暗視野顯微鏡特殊接物鏡，結果此接物鏡大小並不完全合適於中興大學植病系之暗視野顯微鏡，單借回接物鏡使用不便，討論後喬治亞大學願意將整台顯微鏡借給我們，考量經費及使用上之情形，決定暫不借用，另外討論可行之取代方案，於喬治亞大學植病系實驗室將此行之目標實驗相繼完成後於 100 年 5 月 12 日從美國亞特蘭大 (Atlanta) 機場出發經日本東京轉機回到台灣。

目次

壹、目的.....	3
貳、過程.....	3
參、心得及建議.....	6
肆、附件.....,	7

本文

目的:

植物病理學系延攬科技人才 Chung-Jan Chang 張宗仁先生參與國科會研究計畫之客座教授，因執行研究需要，赴美國喬治亞大學進行分實驗並借回執行計畫所需暗視野顯微鏡特殊接物鏡。

過程:

100 年 4 月 26 日早上從張教授從台灣桃園機場出發經日本東京轉機於 4 月 27 日當地傍晚時間抵達美國亞特蘭大 (Atlanta) 機場。出國前與 Dr. James Buck 以電子郵件說明此次前往喬治亞大學植病系之目的，回系上後與 Dr. James Buck 見面相談甚歡，並回到實驗室與助理 Ms. Ruth Donaldson 討論並進行細菌分離及抽取 DNA 之實驗。

細菌分離

細菌 *Xylella fastidiosa* 依照寄主不同分成不同的 strains，如表一，材料中除了

ATCC35876 和 ATCC35879 皆依照以下步驟進行培養。

Grape	ATCC35876
.	ATCC35879
Mulberry	Mul 17
	GHS 505
	G9E
Oleander	GH-9
	Ol
Peach	4-5
Plum	2-4
	2-5
Pecan	4BD2
	4BD7
Sycamore	SLS 27
	SLS 55

- (1) 將上列凍於 -80°C 的每一菌株提出解凍
- (2) 每管加入 0.5 mL PWbroth 培養液
- (3) 利用消毒過的移殖環將懸浮細胞畫菌於 PW 洋菜凍固態培養基
(約沾 5 次移殖環)
- (4) 將培養基置於 28°C 培養
- (5) 帶菌落長出後，將菌落刮下集中於無菌水中， 4°C 冷藏保存直到抽取 DNA
前。

抽取 *Xylella fastidiosa* DNA

吸取 100 μL 上列 4°C 冷藏的菌株液，加入兩倍體積之 0.5N NaOH (含 0.5% PVP,

polyvinylpyrrolidone)，輕搖後加入 1.5 倍體積之 1 M Tris-HCl(pH 8.0) 中和，並加入兩倍體積之 solution 4 (88% isopropanol, 0.2M potassiumacetate, KOAC) 沉澱。之後冰到 -80 °C 冰箱裡 30 分鐘以上，拿出以最高速離心 10 分鐘，倒掉上清液，再以冰酒精潤洗，倒乾後放入真空乾熱器 5 分鐘，等到完全乾燥之後再加入無菌之去離子水 15 μ l 回溶。之後可冰到 -20 °C 保存。兩菌株 (ATCC35876 和 ATCC35879) 的 DNA 抽取，步驟同上，唯一的差異是這兩株的菌株液是來自 -20 °C 冰凍的菌株液。

暗視野顯微鏡特殊接物鏡商借過程

出國前已預先聯絡喬治亞大學植病系了解暗視野顯微鏡特殊接物鏡之情形，與中興大學植病系之暗視野顯微鏡不同廠牌，型號大小相似，比對其特殊接物鏡大小一致，到現場確認比對實際樣式後發現並不完全合適，單獨商借此特殊接物鏡回台灣，經討論後，喬治亞大學願意將整台暗視野顯微鏡特殊接物鏡出借，運送來台灣及回程之運費由我們支出，由於暗視野顯微鏡設備精密，高運送規格之費用不貲，考量經費及實際使用情形，可以找出另外更有效的替代方法，所以我們暫時決定不商借回台灣。100 年 5 月 12 日從美國 Atlanta 機場出發經日本東京轉機抵達台灣。



照片說明: 至喬治亞大學植病系實驗室討論暗視野顯微鏡特殊接物鏡使用及商借情形

心得及建議:

此次到美國的旅程非常成功，我非常感謝中興大學對此次至美國旅程的補助，目前我們已經有 14 不同 strains 的 *Xylella fastidiosa* 代表原寄主葡萄，有桑樹、歐洲夾竹桃、桃子、李子、薄殼胡桃和無花果。這些近期才被分類於不同的 subspecies, 例如: *fastidiosa*, *sandyi* 及 *multiplex*. 這些 DNAs 在我們研究 pear leaf scorch strain 序列是否變異成為 *X. fastidiosa* 中新的 subspecies 中扮演非常重要的角色; 最終的分類結果將會幫助我們在難養菌的研究領域中更增進，使我們成為亞洲區域研究 fastidious prokaryote-related disease 領域的先驅，儘管尚未商借暗視野顯微鏡特殊接物鏡回來使用，我們已經和台灣業者聯絡取得一個接物鏡使我們的暗視野顯微

鏡使用起來更加完善，這將會確實地幫助我們未來研究其他更多 fastidious prokaryotes 引起的高經濟重要性病害，對此研究工作有莫大的助益。在此十分感謝中興大學對此次美國喬治亞研究旅程的協助與補助，樂見像這樣與國際名校或學術單位密切的聯繫與合作的關係持續推廣及延續下去，透過這樣更多的國際交流，可以使我們的研究在國際上更進步。