



國立交通大學
National Chiao Tung University

出國報告（出國類別：☐ A 類、考察訪問
☒ B 類、出國短期研究
☐ C 類、國際會議）

題目：利用光電技術研究果蠅神經細胞
分化不對稱分裂之機制

服務機關：光電工程研究所

姓名職稱：陳豐榮 博士生

前往國家：中國大陸，杭州/浙江大學 生命科學學院

出國期間：2012/03/31~05/31

報告日期：2012/06/15

一、摘要（200-300 字）

神經幹細胞是一種具有分裂、自我更新能力的母細胞，可藉由不對稱分裂的方式產生各類神經細胞。神經幹細胞的發現開創了嶄新的神經治療之研究領域，並帶給當前生物遺傳學與腦神經治療學重大的突破。本人此次短期研究訪問於浙江大學生命科學學院的楊小杭老師實驗室，參與研究果蠅神經幹細胞不對稱分裂之機制，學習到果蠅的交配、果蠅胚胎的採集與觀察，以及果蠅胚胎的抗體螢光染色與螢光觀察。此外，我攜帶了交通大學電子物理系徐琅老師實驗室的自製雷射鑷夾系統到浙大訪問，實際展示此系統的功能給生物背景的學生們與老師們，並且提供她們實際操作體驗的機會；此外，透過校外的參訪機會，意外獲得到與北京清華大學生命科學學院副院長李蓬教授的合作計畫提案。整體而言，是一個豐富而又有許多驚奇的短期交流。

二、目次

(一) 目的.....	4
(二) 過程與實驗結果.....	4
2.1. 神經幹細胞的不對稱分裂之機制.....	4
2.1.1. 研究方法.....	4
2.1.2. 實驗結果 1 - 雌雄果蠅的交配.....	5
2.1.3. 實驗結果 2 - 果蠅胚胎的採集與觀察.....	5
2.1.4. 實驗結果 3 - 果蠅胚胎的抗體螢光染色與共焦式螢光顯微鏡之觀察.....	7
2.2. 自製雷射鐳夾系統之交流展示.....	7
2.2.1. 系統設計與架設.....	7
2.2.2. 系統展示成果.....	8
2.2.3. 展示後的合作方案.....	9
(三) 心得及建議.....	9

三、本文

(一) 目的

以往的科學界普遍認為，中樞神經系統的神經元在嬰兒出生前或出生後不久就已失去再生能力，因此人們一旦遭遇腦組織受損或神經系統的病變時，醫學界無法提供有效的治療。但近年來的研究發現，成年的哺乳類動物的腦組織仍可不斷產生新的神經元，這是因為有一種稱作神經幹細胞(neural stem cell, NSC)的存在(如參考資料)。神經幹細胞是一種具有分裂能力與自我更新能力的母細胞，可藉由不對稱分裂的方式產生神經組織的各類細胞。同樣地，成人人類的腦組織中也被發現有許多 NSCs 的存在，主要分布在側腦室下層與海馬迴兩處。這十年來，神經幹細胞的不對稱分裂機制便成了當前生物遺傳學與腦神經治療學的熱門課題。由於人類腦組織的複雜性與生命週期較長，但是相對而言，果蠅神經組織較為簡單並且果蠅神經系統的運作與人類的腦神經的運作機制上是相似，因此果蠅神經幹細胞被視為一個研究的標準模型。本次前往浙江大學進行短期研究之主要目的便是學習果蠅的培養與果蠅基因調控的分子生物技術，最終希望更加了解神經幹細胞分化時的不對稱分裂之機制。

另一方面，徐琅老師實驗室長期利用光電奈米技術研究許多有趣的生物物理方面的問題，例如徐琅老師在 2005~2007 所主持的國家型奈米科技計畫，題目為題目為“**利用奈米技術探討細菌與宿主細胞之交互作用(Using Nanotechniques to Explore Bacteria-Host Cell Interaction)**”，就是利用雷射鑷夾與電子顯微鏡進行細菌線毛的生物結構力學之研究，並深入探討細菌線毛在細菌感染過程中扮演的重要角色。此項計畫的合作團隊產出十餘篇論文，並申請了 33 份專利。因此，為了進一步促進兩岸之間合作的機會，我們運送了一台自製雷射鑷夾系統到浙江大學進行技術性的展示交流，希望可以提供實質光電操控技術的體驗，激盪出兩岸之間的學術合作機會。

Reference:

B. Reynolds and S. Weiss, (1992) Generation of Neurons and Strocyles from Isolated Cells of the Adult Mammalian Central Nervous System. *Science* **255**, 1707–1710.

(二) 過程與實驗結果

2.1. 神經幹細胞的不對稱分裂之機制

2.1.1. 研究方法

我們所採用的研究方法是利用一般生物技術進行果蠅培養，以及分子生物技術分析在參與果蠅神經幹細胞的各種蛋白質與基因序列的交互作用關係；此外，我們利用共焦螢光掃描顯微技術(Confocal fluorescence scanning microscopy)，觀察並分析幹細胞分化時的一些蛋白質分佈不對稱的現象，進而了解神經幹細胞的不對稱分裂機制是由哪些基因序列以及哪些蛋白質所調控或決定的。由於果蠅的腦神經組織較為簡單且生命週期又短，又可進行無法在人體內操控的基因調控技

術，讓我們可以更快速更全面地了解神經幹細胞的不對稱分化機制，這樣的研究對於我們了解人類神經細胞的運作發展有相當重要的指標性參考。

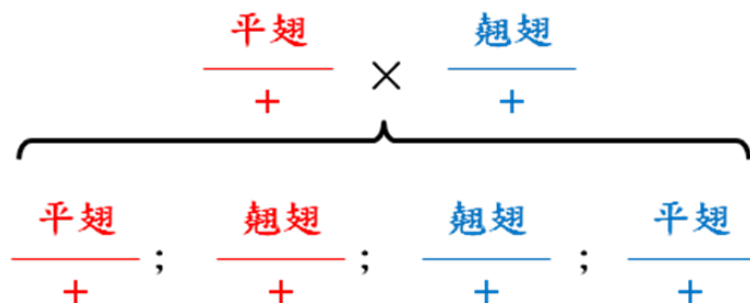
2.1.2. 實驗結果 1 - 雌雄果蠅的交配

在放有果蠅所需食物的透明管子中，一般我們同時置放 2:1 比例的雌雄果蠅總數約為 20 隻(如圖一所示)。經由兩天的果蠅交配、產卵後，將果蠅轉移到新的透明管子中持續進行交配產卵，留有果蠅卵的管子放置 25°C 的環境中約十天後將會孵化出新的果蠅。



圖一 果蠅交配

果蠅的外型表型(phenotype)可有幾個特徵可以辨識，例如複眼顏色、翅膀外觀、肩膀毛髮多寡，腹部毛髮多寡…等，而這些表型都是由基因序列所決定的。例如圖二所示，我們可以利用雌雄果蠅交配方式將原本平翅雌蠅與翹翅雄蠅交配獲得後代是翹翅雌蠅或平翅雄蠅。因此，再搭配一些基因突變技術，便可以把所需要的表型保留在果蠅的種族後代上，這樣的建立方式我們稱之為 stock。



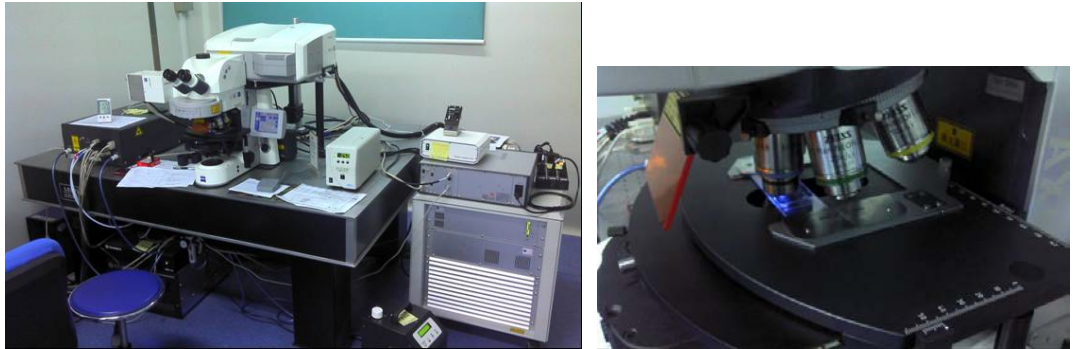
圖二 果蠅基因交配圖譜

2.1.3. 實驗結果 2 - 果蠅胚胎的採集與觀察

利用雌雄果蠅交配的方式，我們可以收集許多的果蠅卵，經過不同時間的培養將可以獲得到不同階段的果蠅胚胎。如圖三所示，胚胎經過約兩個小時將進入第四期的狀態；而一般而言，觀察神經幹細胞的不對稱分裂狀態的時期約在第 11 期至第 13 期之間(5 小時—10 小時)。在採集果蠅胚胎過程中，我們必須事先把果蠅群培養在一個空罐中，罐口處封上一片塗佈果蠅食物的培養皿，果蠅將會在培養皿上產卵。經過了數個小時後，將含有果蠅卵的培養皿取下換新的培養皿進行封口。接下來我們利用一些化學藥劑處理，要把果蠅胚胎的發育過程終止在

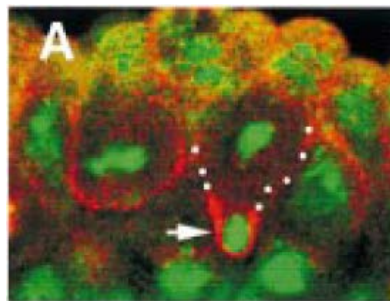
2.1.4. 實驗結果 3 - 果蠅胚胎的抗體螢光染色與共焦式螢光顯微鏡之觀察

當我們要觀察果蠅胚胎內的關鍵蛋白質在神經幹細胞的分布狀況，首先我們把收集到的果蠅胚胎進行螢光蛋白抗體染色，利用抗體專一性的方式，將我們準備好的蛋白質抗體連接螢光分子依序接在我們所要觀察的蛋白質上，緊接著將染色好的胚胎樣品置放在玻片樣品中，再將樣品放置在共焦掃描式螢光顯微鏡上觀察，如圖五所示。



圖五 共焦式螢光顯微鏡(左圖：系統，右圖：螢光顯微物鏡)

我們可以利用螢光顯微鏡發現在一般的神經幹細胞上的一些蛋白質的分佈是不對稱的，而這樣的不對稱分佈是造成神經幹細胞分裂不對稱的主因，因此觀察蛋白質的分佈狀況可以確定哪些蛋白質是主要關鍵的。如圖六所示，一種名為 Prospero 的蛋白質便是決定神經幹細胞不對稱分裂的主要蛋白之一。



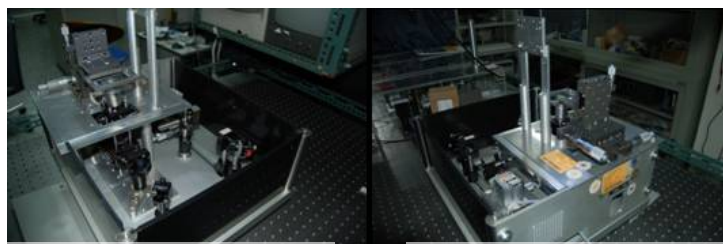
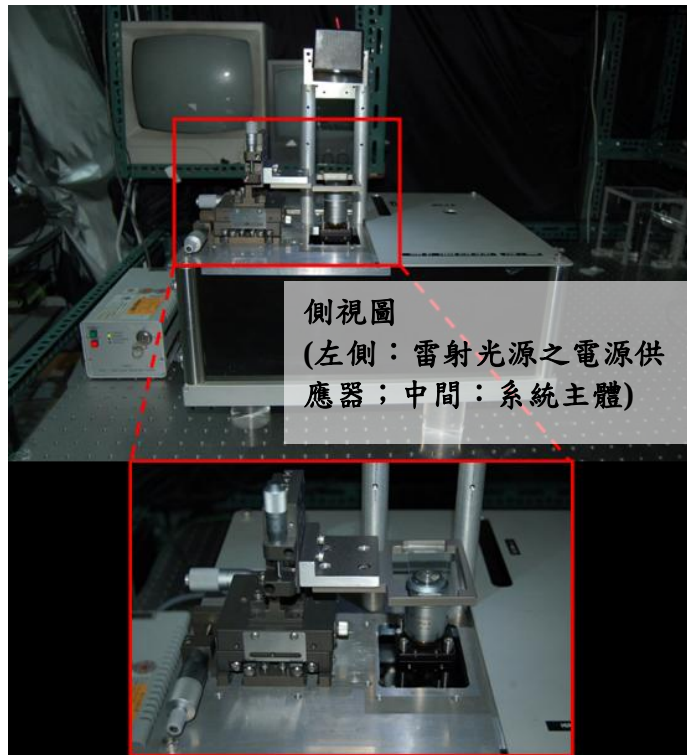
圖六 Prospero 蛋白質(紅色標示)在神經幹細胞中不對稱的分布狀況

2.2. 自製雷射鐳夾系統之交流展示

2.2.1. 系統設計與架設

首先我們在台灣國立交通大學校內自行設計並自行機械加工，然後使用現有的近紅外雷射(波長為 1064 nm)與一些光學元件建構一台雷射鐳夾系統。本系統包含兩個裝置，分別為顯微鏡成像系統與雷射捕捉系統。如圖七所示，顯微系統中，一般 LED 照明光源照射樣品，並透過顯微物鏡成像在 CCD 攝影機上，最後將訊號傳送到一般螢幕上提供最直接的視覺觀察。在光學捕捉系統中，雷射光經過透鏡組擴束並穿過顯微物鏡後高度聚焦於樣品上，而在水溶液樣品中的塑膠珠

將會被光學捕捉在雷射聚焦附近。



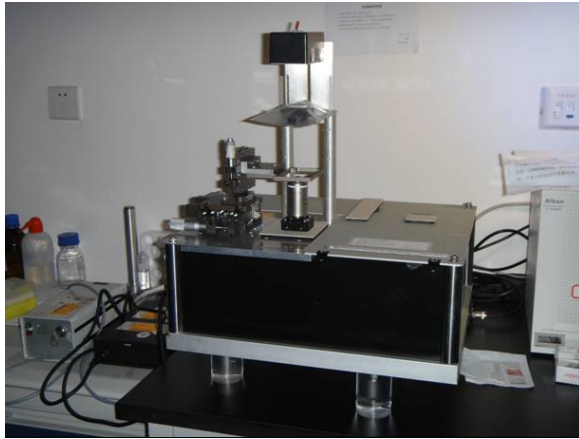
內部裝置側視圖 1

內部裝置側視圖 2

圖七 自製雷射鑷夾系統之內部架設圖(台灣)

2.2.2. 系統展示成果

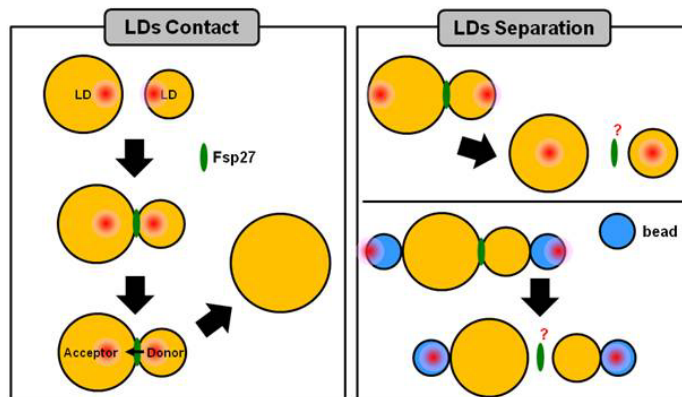
如圖八所示，一台完整的簡易式自製雷射鑷夾系統擺設在浙江大學生命科學學院，楊老師實驗室的顯微鏡房。透過該系統，我實際展示此系統的功能給生物背景的學生們與老師們(如圖九所示)，並且提供她們實際操作體驗的機會。此外，此系統也曾經搬移動到浙江大學玉泉校區，給光電工程研究所的仇旻老師實驗室進行展示交流。最後一個展示是北京清華大學生命科學學院副院長李蓬老師，她是透過楊老師的引薦來到浙江大學給演講，才有這個機會跟李老師介紹我們的雷射鑷夾技術。經過簡單的展示介紹後，李老師非常興奮認為她們很需要這樣的技術來完成她們實驗室目前正在研究的課題：脂滴融合實驗。因此李老師邀請我到北京跟她的學生直接進行討論與交流，於是在 5/16—17 兩天在北京清華大學進行交流，並且討論未來可能的合作事宜。



圖八 自製雷射鐳夾系統(在浙江大學展示圖) 圖九 雷射鐳夾捕捉水中微粒子

2.2.3. 展示後的合作方案

經過了兩天的北京交流訪問，我們整理出未來實質上的合作計畫內容。如圖十所示，我們可以利用雷射鐳夾技術將兩個不同大小的脂滴(Lipid Droplets, LDs)移動並互相接觸，然後等待一段時間讓一種名為 Fsp27 的蛋白質聚集在兩脂滴的接觸位點上，這樣的蛋白質聚集被認為可以為兩脂滴建立一個脂質傳遞通道，使得兩個脂滴可以融合形成一個大的脂滴。另一個提案是當兩脂滴接觸後沒多久再次利用雷射鐳夾將兩脂滴分離，並觀察分離後時 Fsp27 的狀態。若遭遇到捕捉力不足的意外發生時，可以利用抗體抗原方式在脂滴兩邊各自連接一個微粒子 (bead)，這樣的方式可以增加對兩脂滴分離的外力大小。而以上兩個方案已經透過兩邊的討論溝通後確定了，期待未來可以完成此項研究方案。



圖十 脂滴操控接觸與分離之設計圖

(三) 心得及建議

透過這兩個月來在楊小杭老師實驗室的短期學術交流，參與了兩項前瞻的實驗：果蠅體內同源基因重組、果蠅胚胎抗體染色差異性。感受到在中國大陸的科學研究普遍有突破性的進展，而這都歸因於海外引進人才的策略，就像楊老師因為大陸的千人計畫由新加坡大學引進便是一個鮮明的例子。在大陸內部的科學交流也是很熱絡，到了浙江大

學兩個月內，我參與了五次專題演講，特別是認識了北京清華大學的李蓬教授，讓我有機會介紹我們實驗室的雷射鑷夾技術；也因為這樣，促使了未來兩岸合作的可能性。

經過了這兩個月的大陸行之學術交流，本人感受到大陸對岸的年輕學子內心所面臨到巨大競爭的壓力，也見識到學生們在校園裡穿梭追求知識力量的渴望，希望教育可以為他們帶來生活上的提升與保障。大陸高等教育的發展在當前正如火如荼的展開，許多海外年輕、有潛力的人才正被大量且有系統的延攬回大陸內地，所以造就了許多學院、甚至系所內的演講常常來自於世界各地的科學家或企業家，這樣促使了大陸學子更加渴望旅外求學的熱忱，提供了未來大陸學術發展的利基；反之，在台灣的学生普遍上都缺乏危機意識，連我也是。因此站在台灣的立場，我們還有什麼優勢可以在國際上持續競爭？我真的強烈建議台灣的學生要去大陸看看，在相同的語言下，我們到底有多少優勢？到底我們真的是資訊流暢的國家嗎？

相對於大的面向，針對於我個人物理科學的本位感受，我是第一次深入接觸生命科學的實驗室，扎實地體驗生科研究的生活方式、思維態度以及人文風氣。本次的短期研究訪問，由於在沒有壓力的心情下到訪，因此可以打從心裡的享受科學研究的樂趣，更可以無私的跟他人分享自己目前完成的科學成果。也由於不同領域的交流，可以激盪出新的思維與彼此的鼓勵，就因為彼此不懂，才要花更大精力與技巧讓彼此了解，也幫助自己更加了解自己所做的研究。

除了科學研究，更加重要的是我結識了許多朋友(如圖十一)，在不同成長背景下的個體相聚在一起，可以聊天打屁趣味橫生，掏心掏肺地分享未來的憧憬與無知。也由於不同的國情風俗，體會自己的短處而互相截長補短。

總而言之，建議學校多鼓勵學生們去親身體會目前這世界的高度競爭，鼓勵他們離開台灣到世界各地參訪，即使是短期兩個月的機會也是會帶來巨大心靈上的變化。



圖十一 與楊小杭老師實驗室的朋友合影照
(攝於浙江大學生命科學學院 2012/5/24)