

教育部補助大專校院延攬國際頂尖人才 110 年度績效報告

學校名稱及聘任系所： 國立中興大學 生物科技學研究所	學門領域： 生命科學與農學
學者姓名： 呂冠儒	<input type="checkbox"/> 玉山學者 <input checked="" type="checkbox"/> 玉山青年學者

一、質化績效說明

審查重點	預期達成目標	執行績效及目標達成情形說明	檢附資料
一、玉山（青年）學者之研究工作主要內容及全程經過概述。	玉山青年學者計畫的目標是希望能夠幫助年輕研究人員厚植研究基礎，站穩台灣，迎向國際。本計畫預期能夠幫助申請人推進學術研究，發表高品質的研究，並且讓申請人可以有更多的機會參與國際研究活動，加強台灣與世界研究的接軌。	計畫執行至今已達兩年，由於計畫經費的挹注，使得申請人得以有較佳的研究人力來執行研究。在成果上，前兩年處於系統設立與穩定的階段，因此個人研究室的產出仍在孵化階段。但是在國際合作上，已經有研究成果成形，目前已在投稿階段。此外，雖然因疫情的影響，參與國際研討會機會減少，申請人仍然獲邀至荷蘭、奧地利與共同合作學者接洽並發表演講。最後，不論在教學以及服務方面，申請人皆有積極的投入參與。詳細執行內容請參閱附件 2。	如附件 2
二、玉山（青年）學者未來研究主題與校務發展（包括高等教育深耕計畫）之連結及預期效益： （1）學者研究規劃及目標。	（1）學者研究規劃及目標：系統性地了解原生質絲的特性、其運輸蛋白的機制、演化上的過程、病毒如何利用這個系統傳遞，以	（1）目前分別依照計畫中了解地錢原生質絲的特性以及運輸蛋白機制部分，有相當程度的進展。此	具體工作績效或成果起參考附件 1 以及附件 2

審查重點	預期達成目標	執行績效及目標達成情形說明	檢附資料
<p>(2) 學者研究主題內容及其與學校校務發展關聯性。</p> <p>(3) 具體工作績效或成果，內容請包括專題研究計畫期中進度報告。</p> <p>(4) 預期成效（預計可達到量化或質化之具體成果）</p> <p>※如有量化績效者，請另再填寫附件 1</p>	<p>及最終能夠發展出調節這些機制的技術</p> <p>(2) 學者研究主題內容及其與學校校務發展關聯性：目前，在中興生技所缺少了針對細胞間溝通，在植物生長與病毒移動的深入研究。申請人在植物細胞間溝通的專長，是完整研究植物病毒與植物生長發育中，所需的一塊重要拼圖。</p> <p>(3) 具體工作績效或成果：第一年，實驗室將專注於利用現有的工具，經由生物轉殖技術來製造研究所需知轉殖地錢。第二年開始構築地錢的原生質絲蛋白質體。利用目前已知的技術，測試在地錢中純化原生質絲的可能性。</p> <p>(4) 預期成效：申請人預期在玉山青年學者補助期間，能夠有三至四篇突破性研究論文發表於高影響力國際期刊。另外，申請人預計參加三至四場國際研討會，並發表研究成果。建立中興大學與荷蘭瓦赫寧恩大學、比利時 VIB 化學基因體中心之緊密國際合作關係。</p>	<p>外，在病毒如何利用原生質絲系統傳遞的部分，也已經初期建立好篩選系統，並且開始獲得資訊，替未來的研究打好基礎。</p> <p>(2) 目前與所上兩位病毒專門的老師有相當程度工作上的互相幫助，此外，也與生科系、植病系的老師有許多研究上的交流。相信在未来會有更多實質合作的機會與可能。</p> <p>(3) 目前，第一年的目標基本上都已達成，地案二年的目標也正順利進行，詳情請參考附件 2</p> <p>(4) 目前，申請人在與國外合作的研究上已經進入投稿、審閱狀態，相信近期有機會可以有發表產出。而實驗室目前的研究進度也在掌控中，相信接下來的一年會有機會有更多產</p>	

審查重點	預期達成目標	執行績效及目標達成情形說明	檢附資料
		出。而在國際合作中，互相參訪與實際合作，都在進行中。	
<p><u>三、學校申請計畫原定目標暨支持成效。</u> （請敘明學校協助學者進行教學研究所提供之各項配合措施或經費，如研究設備及經費、研究助理人事費、住宿搬遷、子女教育協助事項等）</p>	<p>研究設備及經費：</p> <p>生物科技學研究所提供辦公室以及個人研究室，以及多項研究設備（包含本所除提供呂冠儒博士教師個人實驗室外，並可提供雙掃描式光譜式雷射共軛焦顯微鏡、倒立式雷射共軛焦顯微鏡、高效能液相層析儀、串聯質譜儀、細胞培養室、及植物生長溫網室等設備）。中興大學研發處另補助新進人員研究經費新台幣六十萬元整、農資學院補助設備費新台幣十萬元整以及生物科技學所補助設備費新台幣十萬元整。</p> <p>中興大學並提供學人宿舍供學者租賃。</p>	<p>在研究設備與經費上，校方及所方提供相當不錯的支持，使得申請人在第一年即可快速設立好研究室以及取得適當的研究設備。校方以及所方的職員也給予相當大的支援，使得申請人在行政事務上，可以快速地進入狀況。此外，玉山青年學者挹注的經費也實質上的幫助了申請人在人事上聘用助理，讓申請人可以投注足夠的時間進行研究室的設立以及執行研究計畫。在生活方面，校方提供相當優質的宿舍租用，對於赴任初期給予了相當大的方便。</p>	
<p><u>四、玉山學者團隊合作情形（請敘明團隊成員及合作方式）（玉山青年學者免填）</u></p>	<p>玉山青年學者免填</p>		

審查重點	預期達成目標	執行績效及目標達成情形說明	檢附資料
<p>五、<u>玉山(青年)學者</u>國際化合作，鏈結接軌國外學術資源合作交流，與學校發展相結合；學者亦應善用其國際學術網絡資源，協助任職學校國際化，推動國際交流合作（包括國際師生交換、跨國合作研究、雙聯學制）</p>		<ol style="list-style-type: none"> 1. 於 2022 年 5 月訪問荷蘭 Wageningen University and Research (WUR) 並發表演講 2. 於 2022 年 5 月訪問奧地利 Institute of Science and Technology Austria (ISTA) 並發表演講 3. 荷蘭 Wageningen University and Research (WUR) 生化所所長 prof dr Dolf Weijers 預計 2023 年 3 月將應邀來台參訪 	

量化績效說明

項目		成果及具體工作績效	說明
1. 人才培育		碩博班課程_5_堂 學士班課程_2_堂 博士生_0_人 碩士生_2_人 學士生_1_人 其他 研究助理 3 人、博士後研究人員 1 人	碩班課程：分子發育生物學、專題研究、文獻選讀、分子生物技術及原理、植物訊息傳遞 學士班課程：分子生物學、農業概論（英語授課）
2. 論文著作	國內	期刊論文__篇 專書及專書論文__本 研討會論文__篇 技術報告__篇 其他____	
	國外	期刊論文__篇 專書及專書論文__本 研討會論文__篇 技術報告__篇 其他 投稿中論文 1 篇	https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.04.28.489888v1
3. 專題演講		_2_場次	
4. 專利 (含申請中)	國內	__件	
	國外	__件	
	<input type="checkbox"/> 不適用		
5. 產學合作		產學合作企業__家	
		產學合作計畫__案	
6. 技術移轉		技轉授權__項	
		技術移轉授權金合計（金額）__元	
		<input type="checkbox"/> 不適用	
7. 其他			

績效說明

研究目標：

細胞間的溝通，對於細胞辨認自身環境而產生相對應的反應、以及在多細胞生物體中，細胞如何合作來建構出完整組織與器官而言，是不可或缺的機制。然而由於細胞壁的分隔，使得植物細胞在直接運輸物質上，相對於動物細胞，有較高的困難度。為了克服這個屏障，植物在由藻類演化成陸生植物時，演化出了包含細胞膜的微小通道來連接細胞，稱為原生質絲。原生質絲可通透許多植物所需的微小分子。其中，蛋白質會經由原生質絲的運輸，參與細胞身份的決定以及調節整體組織結構的形成，來調控植物生長與發育。此外，許多植物病毒也演化出特殊的移動蛋白，利用這個便利的原生質絲通道來傳遞，達到系統性感染。值得一提的是，植物的生長點區域，具有一個未知的特性，使得病毒無法入侵，研究此機制對於了解並促進植物抵抗病毒感染，是很具潛力的一個突破點。

即便植物細胞間蛋白質運輸的機制如此重要，我們對於植物如何調控蛋白質經由原生質絲運輸的機制，知道得非常有限。因此，為了能夠系統性地了解原生質絲的特性、其運輸蛋白的機制、演化上的過程、病毒如何利用這個系統傳遞，以及最終能夠發展出調節這些機制的技術。

研究規劃：

為了瞭解原生質絲蛋白質運輸的機制，我們計劃首先利用新興的模式植物地錢 (*Marchantia polymorpha*) 來探討，早期演化出的無維管束植物如何調控細胞間蛋白質的運輸。由於地錢在植物演化初期，就與維管束植物分枝開來，因此，地錢在細胞間蛋白質運送的機制可能與維管束植物已知的狀態有些許差異。此部分的研究計畫主要分為三大主要部分：A、地錢原生質絲運輸特性分析、B、建立地錢原生質絲蛋白質體資料庫、C、利用地錢篩選原生質絲運輸缺陷的突變植物。

另外，為了針對病毒移動的機制做更深入的了解，我們也提出利用模式植物菸草 (*Nicotiana benthamiana*) 來探討植物病毒系統性感染，以及植物如何避免病毒入侵生長點的機制。此部分的研究計畫主要分為兩大部分：A. 建立生物素 (biotin) 標記蛋白質系統以及 B. 探索植物病毒運輸的機制。

(一)預期達成目標(含質化或量化績效目標)

第一年預期目標：

實驗室建置：添購研究所需研究器材以及測試研究系統與聘任研究助理

研究目標：

- 在地錢中設立蛋白質運輸監測系統：光誘導螢光蛋白系統與組織專一促進子表現螢光移動蛋白系統。
- 研究地錢中創癒葡聚醣合成酶對細胞間蛋白質移動的調控影響
- 設置利用生物素標記方式探討植物病毒移動機制的系統

教學目標：課程開設

- 參與系上以及與他系合開課程
- 指導碩、博班學生
- 指導高中生命科學研究人才培育計畫學生

服務目標：加入並參與台灣植物學年會活動、參與國際研討會

第二年預期目標：

研究目標：

- 期刊投稿：針對地錢蛋白質移動系統的設置以及初步探討地錢蛋白質移動的現象撰寫論文，以及針對利用生物素標定系統來獲取病毒移動蛋白的互動蛋白質體撰寫論文。
- 下半年度預計開始運輸系統篩選
- 地錢的原生質絲純化與蛋白質體研究
- 生物素標記系統的優化與針對目標蛋白的互動蛋白質體純化與分析

教學目標：課程開設

- 參與系上以及與他系合開課程
- 指導碩、博班學生
- 指導高中生命科學研究人才培育計畫學生

服務目標：根據所上以及領域所需，積極參與相關服務項目

(二)執行績效及目標達成情形說明(請說明達到量化或質化之具體成果與績效、對學校發展之具體助益等)

第一年績效及目標達成情形

實驗室建置：

— 在科技部、教育部以及中興大學校方、生技所所方提供的幫助下，實驗室的設立非常順利（請參照報告第三部分）。多數的研究設備在短期內皆已就位，也順利徵得兩位研究助理進行研究。

— 實驗系統的設立：

目前，在地錢中利用光誘導變色螢光蛋白來探索蛋白質移動效率的系統，已經建置完成，並且在共軛焦螢光顯微鏡下可明顯的探測到螢光蛋白在經過光誘導後的顏色改變。

此外，利用組織轉一促進子 *DR5* 來表現不同大小螢光蛋白的載體，業已完成。目前在利用短暫表達的方式在圓葉菸草中可觀察到螢光蛋白的表現，並且利用西方墨點法可以確認載體可順利表達不同大小的螢光蛋白。現在正在將載體轉殖至地錢中以進一步篩選有表達螢光蛋白之轉殖植物。

在地錢中，經由生物資訊分析方式可鑑定出三個創癒葡聚糖的合成酶 (MpCalS1, 2, and 3)，利用 CRISPR/Cas 基因編輯的方式，我們正在逐步地解析單一個合成酶對於地錢生長的影响。目前發現，我們所篩選到帶有突變的植物，不論是有嵌入或是移除核酸，突變的方式都僅限於不會造成蛋白質轉譯框架移動的突變。我們推測這些創癒葡聚糖對於地錢的生長發育也許佔有非常重要的地位，以至於發生嚴重突變的植株（轉譯框架改變而導致轉譯錯誤，使得蛋白完全失去功能），皆無法存活。目前我們正在取樣更多植株來判定這一可能性。若推測為正確，我們可能需要利用誘導式突變的方式，讓植物在生長時不會發生突變，直到我們希望測試功能時，再誘導突變。我們也正積極地將蛋白質利用基因工程的方式來將 MpCalS1-3 與螢光蛋白結合，以達到分析蛋白質在細胞內座落的位置以及功能性分析。

在生物素標定系統上，目前已可穩定將目標蛋白與生物素標定酶在圓葉菸草中表達，再經由生物素處理後，已可偵測到與未處理植物間蛋白質標定的差異。將在下個年度進行純化與分析，以期了解蛋白質互動的機制與調控蛋白移動的原理。

課程開設的部分，目前在所上有與其他老師合授分子植物發育，並且獨立開設植物訊息傳

導的課程，也即將在研究生加入後，開設專題研究與文獻選讀的課程。在其他課程上，目前也與園藝系老師合授大學部分分子生物學的課程。

學生指導上，由於是第一年加入，目前尚未有研究生。在 110 年上學期開始後，將會有 2 位碩士班學生加入。此外，希望能夠徵求博士後研究人員加入，以增加研究室的研究量能。在下個執行年度中，將會指導高中生人才培育計畫內的幾位學生，以培植優秀的青年學子，帶動新一代研究新血。

最後在**服務方面**，在去年已加入台灣植物學年會，並在植物分子夏令營活動中，參與最佳論文評比與最佳壁報評比的評審工作。在國際上，也負責擔任相關領域的論文評鑑人員 (*Frontier in plant science*)。另外，在今年的 intercellular communication and plasmodesmata in plant development and disease meeting (11-16 July 2021) 線上研討會中，已與多位學者有交流討論，未來會再持續參與國際間的交流活動。

第二年績效及目標達成情形

研究目標：

地錢原生質絲特性分析：

在維管束植物中，在接近分生組織以及年輕(sink tissues)組織的部分，原生質絲允許約 60kDa 大小的物質擴散通過。由於結構上，地錢的原生質絲與維管束植物並無明顯的特異性，因此，我們假設地錢與維管束植物原生質絲的通透性不會有明顯的特異性。為調查此一特性，我們利用第一年執行計畫時所設立的光誘導變色螢光蛋白來測試其移動特性。

我們將地錢初生芽的表皮細胞中，假根前驅細胞內的螢光蛋白做光轉換，來觀察螢光移入周圍細胞的情形。出乎意料的是，此大小約 25kDa 的 mEOS3.2 蛋白，在我們觀察的時段（90 分鐘）內，並沒有移動到周圍細胞的現象，與我們所假設的現象不同。因此，我們提出兩個可能的假設：一、地錢的原生質絲通透性與維管束植物不同，只能通透小分子物質。二、由於我們所觀察的樣品是初生芽，在尚未接觸水分前，初生芽是身處冬眠狀態。在維管束植物中，分生組織與種子的冬眠都與原生質絲的閉合有密切關係，並且會受到植物荷爾蒙 ABA 的調控，我們因此推測是因為初生芽在冬眠狀態下，原生質絲處於關閉狀態，而無法通透 mEOS3.2。

為了進一步了解以上推測何者為真，我們將進行一系列的測試：

一、利用小分子螢光物質 CFDA（5-Carboxyfluorescein diacetate）來測試地錢初生芽以及脫離冬眠後的芽體原生質絲的擴散狀況。二、利用光轉換螢光系統來測試脫離冬眠後芽體細胞間，是否逐漸可以運輸 mEOS3.2。三、利用基因槍將 mEOS3.2 在成熟地錢表皮細胞短暫表達，觀

察 mEOS3.2 是在成熟地錢中，可以如預期的移動。

目前部分實驗正在進行中，相信很快可以得到足夠訊息來了解地前原生質絲的特性，我也將會著手進行論文撰寫，希望可以將目前的研究成果發表。

運輸系統篩選：

在取得了 DR5v2::1x, 2x, 3xCitrine 的轉殖植物後，我們利用最新一代共軛焦螢光顯微鏡的時間解析螢光光譜系統 (Fluorescent lifetime imaging microscopy, FLIM) 來進一步詳細分析轉殖植物螢光表現的位置，以定義蛋白質移動的現象。然而，當我們觀察轉殖植物後發現，除了過去可見的生長組織部位，有相當強的螢光表現外，過去認為沒有螢光表現的位置，我們也發現了較微弱卻穩定表現的螢光 (圖四)。由於此系統是為了接著以化學基因體方式來篩選調節移動的化合物，因此，螢光對比的強度需要有足夠的差異，才能夠讓篩選容易進行。目前我們手上的轉殖植物並不適合此一目標，因此，我們預計另外選用其他已知的組織專一的 promoters (*MpFRHpro*, *MpRSL3pro*) 來重新構築此系統。預計會有半年左右的時間差。

地錢的原生質絲純化與蛋白質體研究：

為了進一步了解原生質絲結構上的演進，我們計劃分離地錢的原生質絲並進行蛋白質體的分析。在正式進行分離前，我們計劃先篩選可能座落在地錢原生質絲的蛋白質作為標定蛋白。為了達成此目標，我們利用生物資訊方式，分析了數個已知會座落在阿拉伯芥原生質絲的蛋白在地錢中的相似基因。目前，我們已經分析了 6 個已知的基因，其中四個蛋白質的地錢相似基因，再接上螢光蛋白後利用短暫表達，也會抵達圓葉菸草的原生質絲。我們利用其中一個蛋白質當作標定，進行了圓葉菸草的原生質絲分離。我們在分離的過程中，分別紀錄了細胞壁碎裂的情況、纖維素酶作用的效率以及最終分離出的原生質絲中，標定蛋白存在與否。我們發現，目前我們的 protocol，可以有效地粉碎細胞壁，並且在纖維素酶作用後，將大多數的纖維素分解，最終分離出來的原生質絲，也包含有大量的標定蛋白。因此，我們確認我們的原生質絲分離方法，可以有效地分離原生質絲。目前，我們正在將篩選出來的標定基因轉殖到地錢中，將在取得轉殖植物後，進行原生質絲的分離以及蛋白質體的分析。預計一年之內應可得到目標資訊。

生物素標記系統的優化與針對目標蛋白的互動蛋白質體純化與分析：

為了更詳細的了解，植物細胞間，如何透過原生質絲運輸蛋白質，我們建立了生物素標記系統，並且確認了已知會在植物細胞間移動的菸草鑲嵌病毒的移動蛋白 (TMVMP)，在接上了生物素標記系統，仍可以準確地抵達原生質絲後，我們便開始著手進行生物素標記、親和力沈澱以及蛋白質體的分析。最初，我們利用沒有連接 TMVMP 的生物素標記系統作為控制組，分別進行

了三次得標定，並且進行蛋白質體的分析。其中，在扣除了與控制組重疊的蛋白質清單後，我們得到了約 350 個潛在 TMVMP 的互動蛋白清單。目前，我們正針對這個清單，再進一步的分析其參與的生理路徑。

課程開設：

除了之前已經參與的部分（合授分子植物發育、合授大學部分分子生物學）外，新開植物訊息傳導學碩課程（合授），並且參與英語授課之農業生物科技導論（合授）。在新的學期也會加入生物技術原理課程的合授教師行列。

指導學生：

目前有兩位碩士班學生（一升二），並且也已經確定將指導兩位新入學碩士學生以及一位外籍碩士學生。此外，今年（2022）初，實驗室招聘到了一位博士後研究人員，開始新的研究方向，期望新的一年，研究動能可以更上一層樓，開始有產出。

服務方面：

在過去一年指導了明道高中的三位高中生執行科展研究計畫，很榮幸地得到中區生物組的第二名（第一名從缺），獲得學校高度肯定也頒發感謝狀一張。另外，也參與了台中市北屯區松竹國小的科展團隊，此團隊也勇奪中區第三名，學校也頒發感謝狀一張。在去年執行招生海報製作、碩士甄試入學委員、科技部生科司大專生研究計畫評審。今年也擔任碩士班入學考試命題教師，也參與製作招生廣告，並且擔任所上 EMI 課程規劃教師，積極參與學校相關事務。今年也受邀擔任國際知名期刊 *Science advance* 的 reviewer，替國際學術研究領域提供專業領域的建議。最後，參與今年台灣植物學會舉辦的“後疫情時代之前瞻植物科學與永續農業研討會”之協辦單位，幫忙處理場地預訂與協調部分廠商贊助。

照片

一、實驗室建置：

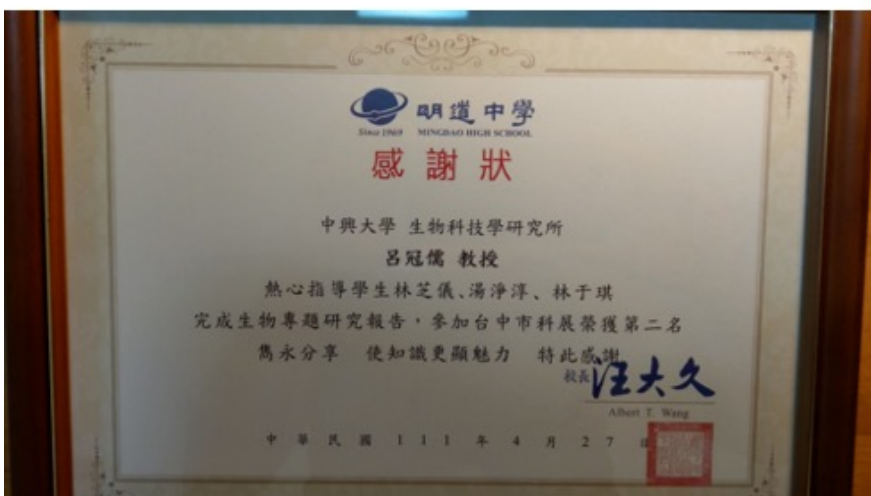
在科技部哥倫布計畫以及教育部玉山青年學者補助的幫助下，實驗室的建置非常順利的完成。以下為實驗室現況



二、參與服務部分：

在 109 學年度分別擔任私立明道中學科展指導教授，以及台中市北屯區松竹國小科展顧問，榮獲學校頒發感謝狀各一張。

三、國際合作部分：



於 2022 年五月，出訪荷蘭、奧地利合作單位進行交流，並發表演講

