



臺灣杉木材形成及其抽出成分生合成機制之功能性基因體相關技術之研習報告

文、圖 ■ 王升陽 ■ 中興大學森林學系助理教授

■ 曲芳華 ■ 臺灣大學森林環境暨資源學系助理教授

■ 張上鎮 ■ 臺灣大學森林環境暨資源學系教授

一、前言

臺灣杉 (*Taiwania cryptomerioides* Hayata) 為臺灣原產重要經濟樹種，與銀杏 (*Ginkgo biloba*)、世界爺 (*Sequoiadendron giganteum*) 及水杉 (*Metasequoia glyptostroboides*) 同屬中生代與新生代第三紀子遺植物，為世界級之珍貴樹種，目前亦是臺灣重要的造林樹種之一。就木材性質而言，臺灣杉木理通直，材質輕軟，加工性質極為良好，且心材具有美麗的黃紅色紋理，頗具特色，至於木材使用者所關心之耐候性、耐腐朽性及抗白蟻性等特性，臺灣杉與檜木類相當，同屬性能優越之材種，故常作為建築、家具、門板及薄板等用材。近些年，國內研究人員已由臺灣杉分離鑑定出多種倍半萜類 (Sesquiterpenoids) 以及木酚素 (Lignan)，並證實這些臺灣杉特殊的成分具有抗真菌、抗白蟻，及與人類健康機能相關之抗細菌、抗蟎、抗腫瘤等功效。由此顯示，臺灣杉之生長分化及天然二次代謝物之分離與鑑定，實值得進一步予以研究。此外，若是能配合基因體學及蛋白質體學之研

究，或可瞭解二次代謝物形成所需之酵素及其相對應之基因，以作為生物多樣性及保育生物學之研究基礎，並可累積成果使其成為生物技術、農業及醫藥業的重要資源。

關於以功能性基因體的角度探討木材形成機制的研究，國外已有一些初步的研究報告發表。目前，國內的研究人員亦積極從事臺灣本土樹種的基因體學研究，且已將初步之研究成果發表於國際專業期刊（如：Plant Science, 167:955）。為了加速研究效率，並避免於研究過程中不必要的錯誤發生，且如能與國際上一流並具經驗的研究團隊接軌是最經濟且有效率的方式之一。因此，本研習計畫之目的乃結合目前臺灣林業界從事代謝產物研究，包括成分分離、活性分析與生物技術專長之研究人員，前往北卡州立大學 (NCSU) 森林資源學院 H.M. Chang (張厚民) 和 V. L. Chiang (姜立泉) 教授等實驗室，研習木材形成與抽出成分生合成機制之功能性基因體相關之技術，期能成功地建立國內林木功能性基因體研究體系。本研習計畫因在事前有周詳的前置作業，再加上農委

會的大力支持下，已於去年（93年）8月順利執行完成。以下僅將就研習經過、心得感想與建議等，作一綜合報告與討論。

二、研習過程

在整個研習過程中，我們共與美國的學者專家（張厚民教授、姜立泉教授、Dr. L. G. Lee、Dr. S. Suzuki與Dr. L. M. Len）及其研究室資深的同仁舉行二次策略性的綜合討論及四次針對特別主題，包括：木材成分分析方法的新進展、基因序列與蛋白質比對分析、與木材形成有關之基因選殖及微陣陣生物晶片分析等之主題討論與研習。過程中，我們並在姜教授的安排下利用一個上午的時間，與他實驗室來自日本的年輕博士後研究員—Dr. Shiro Suzuki討論與木酚素及類木酚素（Norlignan）的體外酵素合成有關之資訊，並交換研究構想及學習Dr. Suzuki的寶貴經驗。此外，在張教授與姜教授的引領下，我們參觀了北卡州立大學木材與紙科學系的製漿造紙先導工廠、濕端化學實驗室、紙張性質實驗室，以及重新整合的生物技術中心之基因體學核心實驗室、生物資訊中心、植物轉殖實驗室及生物晶片開發中心等先進實驗室。

第一次的綜合討論於張教授的討論室中進行，張教授約略地向我們介紹他們系與研究所的現況，及目前的研究興趣、主題及方向。另外，張教授對我們強調，欲發展林業科學研究必需加強人材的培育與網羅，並擴展國際觀；同時，他更強調現代分子生物學

與林業科學研究必需更緊密的結合。除了綜合討論外，張教授並安排實驗室中較資深的成員與我們討論目前的研究工作，其中，很高興得知目前我們在臺灣積極建立的代謝體（Metabonomics）研究系統，正巧也是他們研究室的研究重點之一。就研究趨勢而言，越來越多且來自於不同領域的學者專家均認為，建立植物代謝產物圖譜為研究植物功能性基因體所必須完成的重要工作，這是因為僅由mRNA或蛋白質表現並無法對植物的生理功能提供直接的證據，而若能解析植物的代謝產物將可更明確地推論植物生理代謝作用及生化功能。此外，完整的植物代謝產物圖譜並可應用於基因改造植物（Genetic modified plant）之分析，可對目前大家對此類食物安全性問題之憂慮，以植物總代謝產物之消長或平衡等相關問題提出一些說明。因此，無論是從基礎研究或應用層面的角度來看，建立代謝產物圖譜實為相當重要的研究課題。然而，進一步從技術層面來看，建立植物代謝產物圖譜確實存在一些問題，有待解決。

另外，張教授亦努力於建立木材主成分快速、微量化的分析方法與步驟，這也是我們嚐試發展的研究方向之一。為了解決目前所面對越來越多的分析試樣，或是需要分析特定組織的試材，因此需要製定出一套有別於過去傳統木材化學成分分析所使用之程序與步驟，即起始的試材量最好要在100mg以內，同時要能獲得可信賴的分析結果。圖1則是目前張教授實驗室，所採用之試材前處

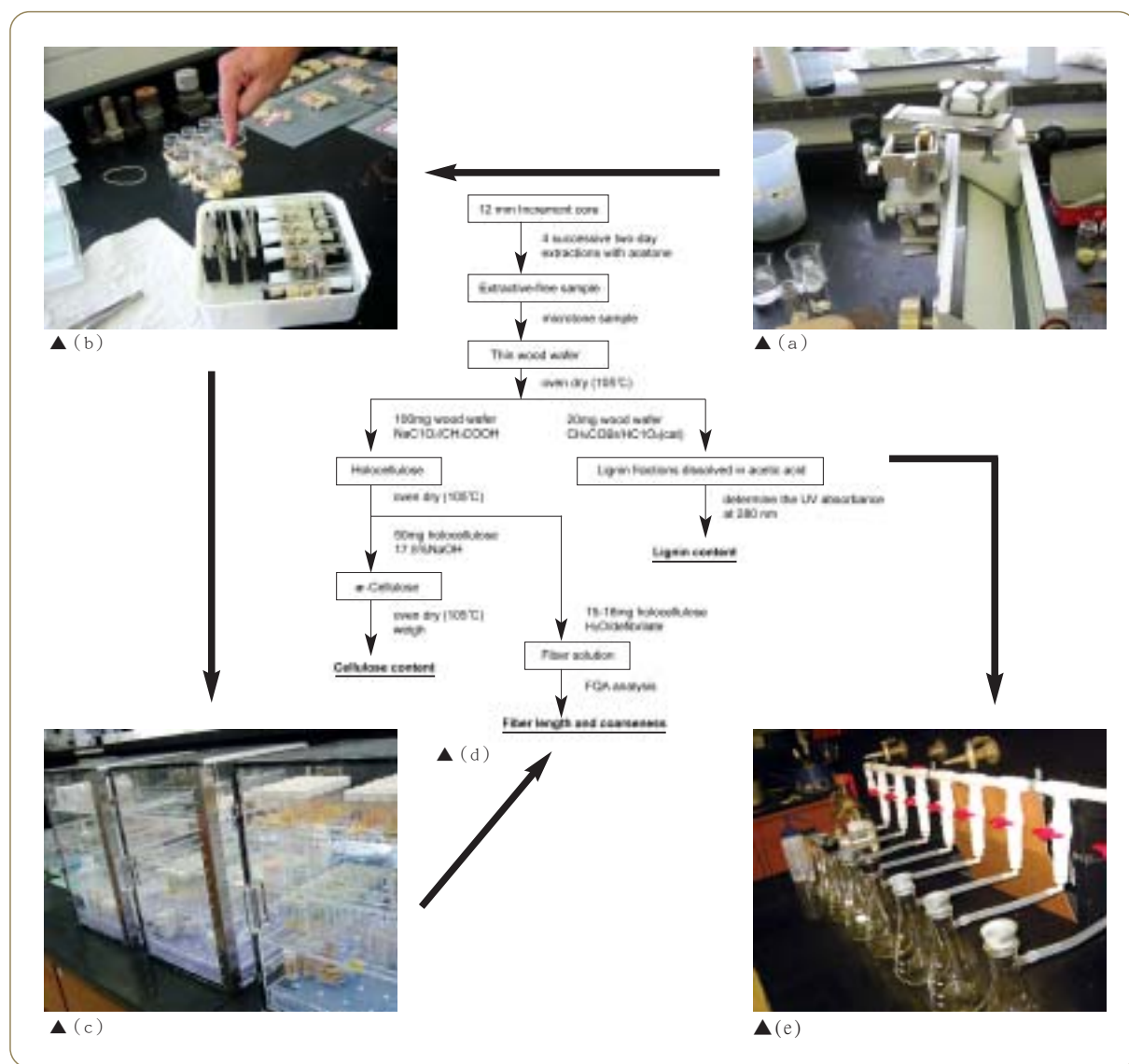


圖1 張厚民教授研究室所採用之木材化學成分微量分析確試材前處理與分析流程。

理程序，以及分析的流程圖。如圖所示，經過切片機（圖1a）所取用的樣品，會先經過固定（圖1b）、乾燥（圖1c）後，續經由他們所設計的分析流程（圖1d），定量、分析其所含重量百分比。其中，他們所利用之乾燥設備（圖1c）是自行設計的壓克力密閉容器，據該系博士班學生，來自台灣的葉汀峰同學的使用經驗，是非常有效率的。此外，張教

授亦大力推薦如圖1e的設備，如此在實驗台的串聯組合，可大大提升了分析的量與速度，實在值得我們未來設計實驗室時參考。

除了綜合討論外，我們亦在張教授的引領解說下，順道參觀了可能是全世界最具規模之一的製漿造紙研究所（圖2），上千萬美金的教學研究設備與實驗工廠、從濕端化學實驗室到可模擬全自動程式設計與電腦操控

的實習教室，讓人不由自主發自內心的佩服，難怪在這個研究領域中，只要是提到畢業於NCSU木材與紙科學研究所的學生，無論是到紙廠工作或尋找教職，都是受人歡迎的。另外，引起我們注意的，其中許多設備是相關的廠商及工廠等捐贈的；換言之，該所與相關的業者建立了良好的建教合作關係，此頗值得我們學習。另外，更值得我們注意的，就如同張教授所告訴我們的，他們的教學與研究工作，還是需要隨著時代潮流而有所改變，就如同他的研究室今年將聘請一位博士後研究人員，重新探討利用木材生產如乙醇之類的能源。又如同去年新加入的

新老師，是以環保與污染防治為研究目標，而他們今年又聘請了兩位與製漿造紙看似無關的生力軍，成立以開發生物材料為主題的新研究室，由這些思變的創新作法，在在都可看出這個具傳統與實力的研究所，正進入一個蛻變時期。

此次主要的研習地點是位於NCSU的新校區，在這個新校區裡有一個很大的特色，即是將研究單位與民間企業結合而成的育成中心，共同使用建築物與分享研究資源。就以我們研習的主要地點—森林生物技術中心（Forestry biotechnology center）這棟建築物而言，它就包括基因體實驗室、化學工程



圖2 張厚民教授帶領下參觀NCSU的製漿造紙研究設備



實驗室、Erimos Pharmaceutical 公司、生物資訊中心等單位，而事實上這些單位都共用同一研究資源。我們在姜立泉教授研究團隊中資深的研究人員—Prof. Laigeng Li（李來根教授）帶領下，參觀了該中心的核心設施，就規模及儀器設施而言，NCSU的森林生物技術研究中心所具有的設備，的確是讓我們所羨慕的。我們認為臺灣大概只有如中央研究院的基因體中心，才能同時擁有如此規模的研究資源。姜教授跟我們分享了許多在從事林木基因體研究的經驗及其獨到的見解，特別是木質素在Monolignol階段的生合成路徑，這幾年姜教授的研究團隊，更是這個領域中許多重要路徑的證明者。以李來根教授最近於美國國家科學院院報（PNAS）所發表的成果，即對Monolignol的生合成提出了相當有力的證據闡述多個酵素在其生合成時的作用機制。由姜教授的經驗及研究成果中，使得我們在短短的研習時間內，獲得了極為重要的寶貴經驗與資訊。

此外，我們亦在Dr. Sun的帶領下，利用：<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>，<http://tw.expasy.org/>；<http://www.geneontology.org/index.shtml>；<http://www.genome.jp/kegg/>；<http://www.genome.jp/kegg/ko.html>；<http://www.genome.jp/ligand/>；<http://biocyc.org/>；<http://metacyc.org/>；<http://biocarta.com/>等資料庫，分析我們在臺灣已解序之臺灣杉的序列表達標籤（EST），同時瞭解其所對應之蛋白質可能具有的功能。我們並與生物晶片專家Prof.

Leonel M. Len討論，擬以Pine chip為Microarray的實驗設計，針對不同發育時期的臺灣杉試樣的基因表現，來探討與臺灣杉生長發育相關的基因表現，這部分的研究並於我們返回臺灣後持續保持密切聯繫。此外，此行另一相當要的收穫之一，就是我們雙方對臺灣杉活性成分Taiwanin A此類木酚素的生合成機制，均表示高度的興趣，並協議未來在這個研究主體，展開合作，共同研究此一僅在臺灣杉這個物種發現的化合物之生合成。我們相信，透過如此分工的合作機制當可擴展雙方研究的深度及廣度。

三、研囊心得與建議

首先，我們要由衷感謝目前正在NCSU攻讀博士學位的葉汀峰先生，自去年（93年）初起，即大力協助我們和NCSU的張教授實驗室與姜教授的研究中心密切溝通，也因此讓我們可以在有限的時間內，獲得最大的收穫。另外，我們還要感謝農委會的大力支持，特別是承辦科技專家—黃妙修及董蓁技正的協助，方可順利完成本研習計畫。我們認為本計畫的執行具有以下幾點的意義及其重要性：

1. 臺灣杉於分類學的地位是隸屬松柏目，杉科，臺灣杉屬，為日本植物學家早田文藏於1906年發表之新種，其屬名為「*Taiwania*」乃以臺灣名之；而小種名為「*cryptomerioides*」其意為「似柳杉的」，乃指其形態特徵與柳杉相似，就本土代表性而言，臺灣杉為臺灣最具代表性的樹種。

2. 林學研究新思維在主、客觀因素的考量下，林政單位與林業研究人員已迫切需要重新對林產利用，甚至是整個林業研究方向作一省思與檢討。雖然，木材具有無數優良的特性，亦被認同是最符合「綠色環保」之生物性材料，但地球上的木材愈來愈少也是不爭的事實，因此，為了讓木材能被有效且永續的利用，並發揮應有的多目標功效，林業研究同儕必需責無旁貸的擔負起教育國人「合理且永續經營、利用森林的真正意義」及「正確使用木材」的社會責任；另一方面則更應積極與努力，為目前被歸類為「低附加價值」的產業尋找新的生命與出路。

3. 功能性基因體為當前生物科技研究的主題，植物基因組序列分析正是目前生命科學領域中最炙手可熱的研究主題，無數的研究人員正積極進行基因組序列的研究工作。但是，經定序完成的基因體序列，就如同一本排滿字母卻未被註解的字典一般，蘊藏著許多未知的意義。因此，所謂後基因體時代的來臨，即是由原本的基因體學研究，進入功能性基因體學的研究，也就是進一步了解基因體序列中每一個基因所代表的功能，及其參與的各種生理、生化途徑的調節機制。但是目前植物已知的功能基因尚少（經實驗證明生理功能者，估計不到10%），因此基因體研究所面臨的最大挑戰，即為如何配合大量植物基因組序列分析所得之大量資料，來解析植物基因之功能，進而了解植物生長、發

育、對環境變化之反應，與植物多樣化等之分子生物基礎，如此方可進一步結合基因轉殖技術等，將其利用於改善生活品質，增進人類福祉之用途。

此次的研習計畫更使我們深深體會到團隊合作的重要性，現今的研究工作已不是單打獨鬥的時代，應是整合各領域的研究專家，共同解決一些重要的問題。另外值得一提的是，此次所參訪的頂尖林業科研團隊對臺灣目前所完成的台灣杉二次代謝物各種生物活性的研究成果多所肯定，對於我們未來的研究構想與方向，亦極為贊同，並表達高度的合作意願，我們回國後雙方仍保持密切的聯繫，並洽商後續的合作事宜。我們對這回研習計畫所開啟的合作關係感到非常的高興與珍惜，希望以後政府相關部門能更支持此類的國際合作計畫，特別是提供更多的機會給年輕的科學家，拓展其國際視野與學習新技術的機會。總之，此次的參訪與研習已達到原計畫所預定之目標，不但促進雙方的了解，並且建立了良好關係，有助於未來進行國際合作研究。🌿

