



財團法人食品工業發展研究所

第 93 期

## 生物資源保存及研究簡訊 第26卷第1期

中華民國 102 年 3 月發行

補助單位：經濟部技術處 / 執行單位：財團法人食品工業發展研究所

## 本期內容

## 中心新聞 1

- ◎ 本所舉辦「102 年研發成果績效展示及產研合作計畫說明會」展示研發成果

## 科技新知 2

- ◎ 誘導型多能幹細胞：過去、現在和未來

## 研發成果 6

- ◎ 利用三染色體 21 之羊水細胞建立誘導型多能幹細胞並應用於模擬唐氏症患者神經發育之缺陷
- ◎ CAS 冷凍技術於人類胚胎幹細胞保存之應用
- ◎ 生資中心 101 年度可移轉技術列表

## 本所舉辦「102 年研發成果績效展示及產研合作計畫說明會」展示研發成果



◀ 本所於 3 月 20 日假食品研究所舉辦「102 年研發成果績效展示及產研合作計畫說明會」，由本所所長陳樹功博士致詞，與在座中小企廠商說明本所年度之研發成果。

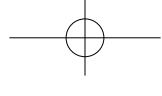
(圖：企劃室羅瑞娟技師提供)

財團法人食品工業發展研究所於 3 月 20 日下午在食品所及 3 月 21 日下午在嘉義產業創新研發中心，舉行「101 年研發成果績效展示及產研合作計畫說明會」，共計 135 家廠商參加，會中展示 101 年度之計畫研發績效，並徵求技術移轉及合作對象，依計畫類別區分三大領域，分別為 1. 保健食品及農產加工；2. 食品與生技製程設備整合與產品研發應用技術；3. 生物資源加值利用。

生物資源保存及研究中心在此次展示會中以生物資源之加值利用，發表以篩選、製程、育種、發酵、配方組成等共計 13 項技術移轉項目，可應用於新興生技、生技食品、醫療器材或化妝品等產業。技術移轉項目可區分三大主軸，如下表：

|                    |                                                                                                                                                                      |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (1) 生物資源物質篩選與技術研發類 | <ul style="list-style-type: none"> <li>台灣本土海洋不完全真菌發酵庫</li> <li>抗發炎新化合物生產菌株及其發酵生產技術</li> <li>致癌因子及發炎因子調節活性篩選技術</li> <li>人類性荷爾蒙調節活性篩選技術</li> </ul>                     |
| (2) 製程開發與量產技術研發類   | <ul style="list-style-type: none"> <li>白藜蘆醇回收製程技術</li> <li>機能性成份多重包埋技術之開發與應用</li> <li>高活性植物雌激素之生物轉換生產技術</li> <li>微生物纖維素含銀抗菌敷料之製備技術</li> </ul>                        |
| (3) 產品應用類          | <ul style="list-style-type: none"> <li>養生照護配方食品技術開發</li> <li>乳酸菌於穀豆類產品保鮮之應用技術</li> <li>利用生物轉化技術生產機能性豆類產品</li> <li>酵母菌於 SOD 酵素之開發與應用</li> <li>微生物配料產品之開發技術</li> </ul> |

(文：生資中心陳倩琪研究員，資料來源：本所企劃室)



## 誘導型多能幹細胞：過去、現在和未來

生資中心 / 資深研究員  
黃效民

### 序

2012 年諾貝爾生理醫學獎頒發給英國劍橋大學的戈登爵士 (Sir John B. Gurdon) 和日本京都大學的山中伸彌教授 (Shinya Yamanaka)，表彰他們二人對於已分化成熟的細胞可以被再程序化，回復到具有多功能性的胚胎幹細胞狀態的突破性發現 (For the discovery that mature cells can be reprogrammed to become pluripotent)。戈登和山中的研究，證明已分化的細胞能再度被初始化，回復到最原始的狀態，推翻過去長久以來對於細胞發育命運為單向路徑的根深蒂固觀念，對再生醫學、疾病治療及新興生技產業帶來深遠的影響！戈登被尊稱為複製之父，開啟了利用去核的卵子，將已分化的體細胞進行再程序化，繁衍出基因完全相同的複製蝌蚪；山中伸彌則是利用特定四個外源基因的導入，將已分化的細胞直接變成『誘導型多功能幹細胞』 (induced pluripotent stem cells, iPSC)。許多人常問我，為何美國威斯康辛大學的湯普生教授 (James Thomson) 沒有得獎？他不是才是發現幹細胞的第一人嗎？至今湯普生教授在 1998 年發表於「科學」期刊的論文，有關人類胚胎幹細胞的建立一文被引用次數已超過 8500 次！我最直接也是一針見血的答案是：今年諾貝爾生理醫學獎並不是頒給幹細胞！若回到

諾貝爾委員會的說明，非常清楚他們表彰的是細胞的 reprogram 這一發現，事實上 2007 年諾貝爾生理醫學獎已經頒發給研究胚胎幹細胞的三位研究人員——Martin Evans、Oliver Smithies 和 Mario Capecchi，雖然他們研究對象是小鼠 (For the discovery that principles for introducing specific gene modifications in mice by the use of embryonic stem cells)。將細胞的再程序化與幹細胞切割，在 2009 年有美國諾貝爾醫學獎之稱的拉斯克獎 (Lasker Award)，就僅頒發給戈登和山中二人已見端倪！本篇寫作主要是將山中教授於 2012 年六月「Cell Stem Cells」期刊中發表的文章內容節錄出來——Induced pluripotent stem cells: Past, present, and future，透過此篇文章讀者可以較清楚的了解影響 iPSC 的發展，由過去基礎、現在技術和將來應用的方向。

### 摘要

iPSC 的成功建立和發展，乃奠基於三條主要科學基礎匯流而來，形成一條新的研究潮流。然而，究竟 iPSC 在功能上是否相等於胚胎幹細胞 (embryonic stem cells, ESC) 仍然有許多爭議，此問題應該僅能以科學證據來回答，而非政治或商業角度…

### 前言

2006 年山中教授發表利用小鼠纖維母細胞同時注入四個基

因，可以獲得性質與 ESC 非常相似的細胞，山中教授特別將其命名為『誘導型多功能幹細胞』 (induced pluripotent stem cells, iPSC)。2007 年該團隊利用相同的程序，建立了使用人類纖維母細胞為材料的人類 iPSC。同一時間，著名的人類胚胎幹細胞培養先鋒——美國威斯康辛大學的湯普生教授團隊利用不同的組合基因，也成功建立人類 iPSC。

### 三大科學匯流締造 iPSC 誕生

就如同其他科學成果，iPSC 技術的建立也是歸功於許許多多過去和現今相關領域科學家的努力和發現，其中主要有三大領域的匯流使得 iPSC 於焉誕生 (圖一)。首先是 1962 年戈登的研究顯示，利用青蛙腸道的表皮細胞將其植入已經先行去除細胞核的青蛙卵中，可以成功孵化出完整的蝌蚪，此為人類第一次證明已經分化成熟的體細胞在卵子細胞質的條件下，可以完成再程序化回到初始狀態。1997 年同樣為英國的 Ian Milmut 團隊，則是首次在哺乳類動物成功的利用羊的乳腺表皮細胞，植入去核的卵子後，再放置到母羊子宮內，誕生出第一隻的複製羊——陶莉。此種體細胞核轉植複製技術，說明即使是分化的細胞也具有所有的遺傳物質，可以發育為完整生物體，而卵子則是含有可將體細胞核重新程序化的所有因子。2001 年日本 Takashi Tada 團隊則是指出，ESC 細胞內也具有能將體細胞核重新程序化的因子。

第二條科學領域則是發現所謂「主要的」轉錄因子 (master transcription factors)。1987 年 Schneuwly 等人發表將果蠅的轉



錄因子 *Antennapedia* 大量表現時，原本該長觸角的地方會長出腳來；同年 Davis 等人也發現，哺乳類動物的轉錄因子 MyoD 可以將纖維母細胞轉變成肌肉細胞。此種研究成果導出一個新觀念，就是有一些特殊的轉錄因子可以調控或誘導原本已經「定型」的細胞品系 (lineage) 轉變為另一品系。自此，許多研究人員開始嘗試尋找單一旦特殊的轉錄因子來調控許多品系，然而此些嘗試大都失敗了。

第三條，也是同等重要的科學領域則是涵蓋胚胎幹細胞的發展。1981 年 Martin Evans 建立第一代的小鼠 ESC，1988 年 Austin Smith 發現可以長期維持小鼠 ESC 多功能性的因子—Leukemia inhibitory factor, LIF。相類似的 1998 年湯普生發展第一代的人類 ESC，則是添加 basic fibroblast growth factor, bFGF 作為培養幹細胞的最適條件。

結合第一條和第二條科學研究成果，讓山中教授提出假設：在卵子或 ESC 細胞內有一群因子，其組合後可以將已分化的體細胞再程序化成為胚胎狀態；而利用第三條科學成果，使用已經逐漸成熟的胚胎幹細胞培養技

術，山中教授終於成功發現只要四個重要轉錄因子—Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc，將其導入一個已分化的體細胞後，就可以完成再程序化，回復到胚胎狀態！

### iPSC 技術

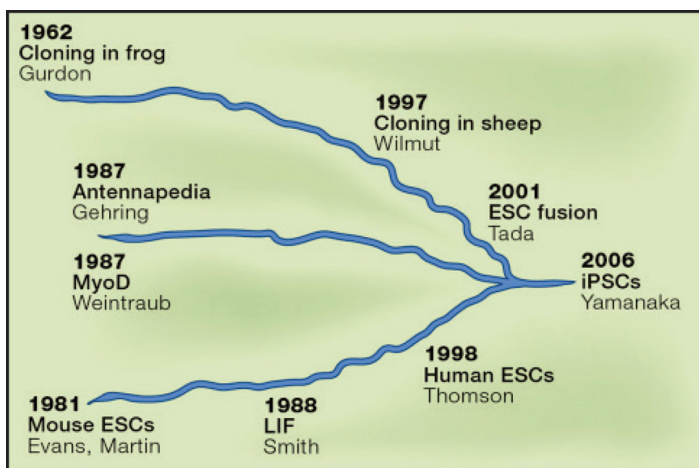
iPSC 技術的一大優勢為簡單又具有再現性！許多研究室相繼投入此領域，試圖了解再程序化的機制，並嘗試改進其操作方式，尤其是效率極低的困難，一般而言以纖維母細胞作為材料，其成功率均低於 0.01%。此極低的成功率讓大家懷疑是否是纖維母細胞中含有一些極少數的幹細胞或未分化細胞，才能成功被 reprogram；然而後續的報告指出，相同技術可以應用於已經完全分化的淋巴細胞和神經細胞，表示大部分的體細胞的確可以轉變成 iPSC，雖然效率有差異！山中教授和許多研究人員均同意，轉型的效率大都遠遠超過 1%，只是大部份細胞沒有完成整個再程序化步驟 (full reprogramming) 而失敗，稱為 partial reprogramming！此與培養的條件和技術有關，相信不久將來即可克服。

最初 iPSC 的建立是使用與愛滋病毒同一類型的 retrovirus 或

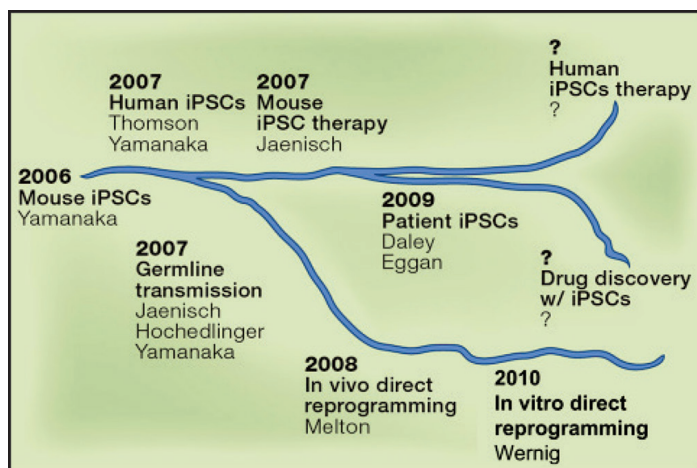
lentivirus，此種病毒的轉染效率高，然而因為會隨機將 DNA 插入宿主的染色體內，造成所謂 insertional mutagenesis 的突變，對於將來醫療應用的安全性將會是一大問題。雖然在小鼠的動物試驗中顯示，只要抑制 c-Myc 的表現，由 iPSC 產製的小鼠外觀上似乎正常，然而人類 iPSC 的長期安全性，無法藉由單一小鼠模式研究獲得保證，因此若以細胞移植治療為目的的 iPSC，必須避免使用會插入宿主染色體的載體。藉由許多研究人員的努力，目前已有許多不會插入宿主染色體的載體成功被發展出來，例如利用質體 (plasmid)、仙台病毒 (Sendai virus)、腺病毒 (adenovirus)、合成的 RNA (synthesized RNAs)、直接使用蛋白質、或利用化學小分子誘導再程序化等。

### iPSC 技術應用

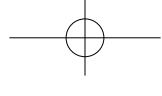
科學之河永不止息，經過許多科學家的努力，iPSC 應用於再生醫學終於大步邁進了，例如治療帕金森氏症、血小板缺乏、脊髓損傷、視網膜黃斑病變等等，都已有利用 iPSC 來進行治療的相關研究。由病患身上取出細胞建立成 iPSC，已被證實可以用



圖一、引領 iPSC 發展之三大科學主流。(1)



圖二、由 iPSC 發展引導出新的科學研究主流。(1)



於建立特殊疾病模式，並作為篩選藥物的細胞平台。經過許多研究人員一連串的相關成果，例如 George Daley、Kevin Eggan 等，短短三年間已有超過 100 篇論文發表建立特殊疾病的 iPSC，令人驚訝的是此些特殊疾病的 iPSC，不僅有單一基因性疾病，甚至晚發型多基因造成的疾病，也可以此種 iPSC 來表現，例如阿茲海默症、帕金森氏症、精神分裂症等。我們不但可以利用此種特殊疾病的 iPSC 進行疾病機制分析，甚至可以發展出新的治療方法！而利用 iPSC 分化而來的體細胞，尤其是心肌細胞、肝細胞等，也可以取代目前的方式作為毒理測試的平台。

除了上述醫學應用外，iPSC 也可以用於動物生技上，猴子、豬、犬等 iPSC 已被成功建立，接著即可以利用遺傳工程技術，產製疾病模式的動物或利用大型動物生產有用物質，例如酵素等，供給因為基因缺失無法製造此酵素的病患。iPSC 可能也可應用於瀕臨絕種動物的保育工作，雖然仍有許多挑戰需要克服。其中最令人吃驚的應用是 Nakauchi 團隊報告，利用一種基因缺失無法發育出胰臟的小鼠囊胚細胞，將大鼠 iPSC 直接顯微注入囊胚內，結果在出生小鼠中發育出大鼠的胰臟，此種模式或許可以成為製造人類器官的一種新來源。另一條 iPSC 技術應用的主流為『直接再程序化』，是直接將一種品系體細胞轉變成另一品系。例如著名的胰臟細胞專家 Melton Douglas 團隊發現利用 3 個啟動子組合，可以將胰臟中的外分泌細胞轉變為內分泌細胞。其他研究則是利用不同的組合，將纖維母細胞轉變為神經細胞、肝細胞、

心肌細胞、血液前驅細胞等等。

『直接再程序化』的優勢為直接且快速，不需要多個步驟先將纖維母細胞轉變成 iPSC，之後再由 iPSC 一步步地誘導分化為目標的體細胞（如神經細胞、肝細胞等等），一次就到位。然而，『直接再程序化』在小規模且少量細胞的實驗條件下充分可行，但如何獲得足夠量的目標細胞以作為後續應用或醫療目的，則是最大難題！也許若能發展出原位『直接再程序化』技術 (in situ direct reprogramming)，將可以解決這個困難。

### 大問題：iPSC 與 ESC 是否相同

有關 iPSC 最大的疑問就是：iPSC 與 ESC 有沒有不同？若有，在功能上是否因此有差異？目前所收集到的研究報告，大致分為兩派：一派認為幾乎沒有差別 (3 篇論文)，另一派則宣稱差異很大 (9 篇論文)，尤其利用後生生物學技術 (epigenetics)，分析全基因座和基因的甲基化等，認為有所謂記憶理論 (epigenetic memory)，iPSC 仍有部份的標記 (signature) 會影響到細胞的完整能力。乍看之下，很多人都會認為好像宣稱有差異的佔絕大多數，有記憶標誌的說法也較合乎觀眾要求，然而仔細研究比較所有論文後會發現，認為幾乎沒有差別的報告所比較的 iPSC 和 ESC 細胞數量均相對很大 (68 vs. 23; 54 vs. 36; 12 vs. 20)；反觀宣稱有差異的 9 篇論文所比較的 iPSC 和 ESC 所使用的細胞數均都只有個位數。我們都知道，就算是 ESC，不同的 donor 和不同的 clone，互相比較也會有很大差異，所以只要是完整再程序化的

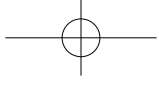
iPSC，統計上應該與 ESC 沒有太大差異！

至於功能上是否有差異，則值得再進一步深入探討。2010 年威斯康辛大學 James Thomson 團隊之一的張素春教授，報告比較 5 株 ESC 和 12 株 iPSC 對於分化為神經細胞的能力，研究結果發現所有 5 株 ESC 均可以達到超過 90% 分化為 Pax6+ 的神經細胞，然而 iPSC 則明顯分化能力較弱，僅介於 10-50% 之間。但是另一團隊 Boulting 則於 2011 年發表在 Nature Biotechnology 期刊，表示他們使用 16 株 iPSC 進行分化為運動神經元試驗，其中 13 株 iPSC 的分化能力與 ESC 沒有差異。造成此種結果差異，可能有非常多原因，值得一提的是不同的 ESC，其功能上的差異也很大，雖然 iPSC 的個體差異性可能較大，但是就現有資料而言，起碼有一些 iPSC，大家可以公認與 ESC 應該幾乎無法區別！至於 iPSC 品質上的差異可能與技術性有關，例如啟動子的組合和其表現劑量、基因傳送方式、培養條件等，故評估和篩選系統的建立將是 iPSC 應用於醫療上非常重要且必要的先決要素！

### iPSC 的缺點？

除了上述曾報導 iPSC 可能有基因表現差異、DNA 甲基化、分化潛能較差等議題外，也有其他異常的可能性，如體細胞突變、基因複製數差異、基因免疫性等，然而山中教授個人認為，許多負面報告都言過其實了，加上媒體的過度反應，誇大的以 iPSC 的「黑暗面」(dark side)、「受到攻擊」、「瑕疵」、「麻煩」、「經歷痛苦」等作為文章標題。仔細研究這些所謂變異或基因上





的差異，其實在建立為 iPSC 的原始細胞中就已經存在，iPSC 只是繼承原有的基因資訊 (genetic background)；已有報告顯示利用 iPSC 產下的 all-iPSC 小鼠，其基因差異甚至較其原始細胞還低。至於基因免疫性問題，目前尚不清楚所謂低免疫反應是否有意義，且由於報告所使用的測試試驗為將 iPSC 直接注射到同種小鼠皮膚上，觀察其排斥現象，事實上將來 iPSC 的臨床應用應該是使用已分化的細胞，而非未分化的 iPSC。

## ESC 和 iPSC 為何如此相像？

就算 ESC 和 iPSC 有些微差異，除了在其細胞來源和製造方法不同外，他們本質上卻非常非常相像。人為製造的細胞 (man-made) 和自然的細胞 (naturally-existing) 如此相像，為何如此，令人好奇！我們已經可以由 ESC 或 iPSC 製造神經細胞和心肌細胞等，然而這些人為製造的神經

細胞和心肌細胞與動物體內的神經細胞和心肌細胞，仍有顯著差異，但 ESC 和 iPSC 卻幾乎無法區別。

其中可能的解釋為：事實上，ESC 也是人為製造出來的細胞！因為 ESC 是由胚胎在囊胚期由內細胞團 (inner cell mass) 取出後，在人為特定的培養條件下產生的，是在正常生理條件下根本不存在的！ESC 與絕大部分的內細胞團細胞在許多方面的特性都不同，例如內細胞團細胞的 DNA 甲基化低，而 ESC 細胞卻非常高；小鼠 ESC 的 ERas (屬於 Ras 基因家族) 表現量高，但小鼠胚胎卻沒有表現；ESC 具有較長的端粒長度 (telomere length) 等等。所以我們在討論 ESC 和 iPSC 比較時，非常可能只是在比較二種都是人為製造的細胞！由於 iPSC 的培養條件和篩選技術均源自 ESC 而來，所以也有可能讓此二種細胞因為篩選和必須適應特定且相同的培養條件，造成 ESC 和 iPSC 如此相像吧！

表一、探討胚胎幹細胞及 iPSC 是否具有差異的論文中，使用的胚胎幹細胞及 iPSC 之克隆數對分析結果具有顯著影響。<sup>(1)</sup>

| Conclusion about the Relationship between ESCs and iPSCs | First Author   | Year | Clone Numbers |      |
|----------------------------------------------------------|----------------|------|---------------|------|
|                                                          |                |      | ESC           | iPSC |
| It is difficult to distinguish between them              | A.M. Newman    | 2010 | 23            | 68   |
|                                                          | M.G. Guenther  | 2010 | 36            | 54   |
|                                                          | C. Bock        | 2011 | 20            | 12   |
| There are notable differences                            | M. Chin        | 2009 | 3             | 5    |
|                                                          | C.M. Marchetto | 2009 | 2             | 2    |
|                                                          | J. Deng        | 2009 | 3             | 4    |
|                                                          | Z. Ghosh       | 2010 | 6             | 4    |
|                                                          | A. Doi         | 2011 | 3             | 9    |
|                                                          | Y. Ohi         | 2011 | 3             | 9    |
|                                                          | K. Kim         | 2011 | 6             | 12   |
|                                                          | R. Lister      | 2011 | 2             | 5    |

## 結論

如果我們接受 ESC 和 iPSC 都是在實驗室人為製造出來的細胞，下一個重要問題是：ESC 是否適合作為 iPSC 的標準或客觀的對照組？山中教授認為：NO! iPSC 研究應該集中在 iPSC 本身的能力和表現，其形成新的組織、器官和模式，與 ESC 不必然相同，而是平行於一條研究主流！山中教授認為 iPSC 技術已經可以在各領域上應用，包括幹細胞治療，而為了廣大應用，建議應該要建立一些合乎品管的 iPSC 細胞庫，且為了降低免疫排斥問題，可以事先測試選定一些同型 HLA 的捐贈者 (HLA homozygous donors)，此可以從健康人或臍帶血庫中製作而來。(事實上，山中教授已獲得日本政府大力支持，將建立 iPSC 細胞庫，預期經事先篩選捐贈者後，只需要建立 75 株 iPSC，就可以涵蓋 80% 日本人民所有的需要，此項計畫將於 2020 年前完成)。

iPSC 技術的誕生不但衝擊科學界，對於政治和商業同樣具有深入的影響力。不過，iPSC 應該要基於科學資料嚴格的被檢視和評估，尤其是臨床上可能的應用，科學家應該要專注於科學研究，而政治和商業應該依賴堅實的科學研究和證據為基礎，作為未來的方向！

## 參考文獻

1. Yamanaka S. Induced pluripotent stem cells: Past, Present, and Future. Cell Stem Cell. 2012; 10:678-84.
2. Cyranoski D. Stem-cell pioneer banks on future therapies. Nature. 2012; 488:139.

## 利用三染色體21之羊水細胞建立誘導型多能幹細胞並應用於模擬唐氏症患者神經發育之缺陷

生資中心 / 兼任副研究員  
盧懷恩

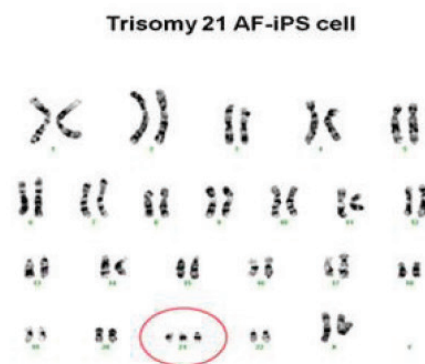
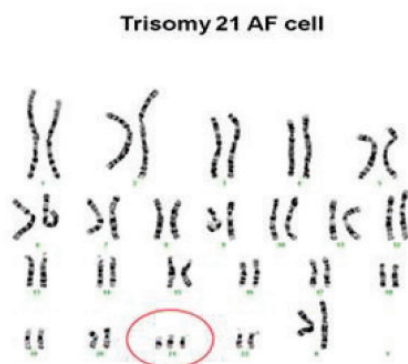
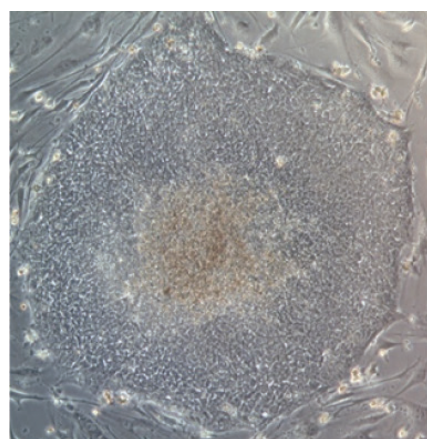
多能型幹細胞 (pluripotent stem cells) 主要指具有分化成三胚層能力的細胞群。早期這類細胞以胚胎幹細胞為典型的代表。1998 年 James Thomson 學者成功將人類胚胎內細胞團 (inner cell mass) 從囊胚 (blastocyst) 中分離出來，於體外建立胚胎幹細胞，並可維持其細胞多能性的培養方法。由於這群細胞在體外可經誘導分化成三胚層的各種細胞，因此成為多能型幹細胞研究上重要的細胞來源。

然而在建立胚胎幹細胞的過程中需要破壞胚胎，常引起倫理道德上的爭議，因此如何建立新型的多能型幹細胞成為科學家一直努力的目標。直到 2006 年日本京都大學 Shinya Yamanaka 學者成功將 Oct4, Sox2, c-Myc 及 Klf 等 4 個轉錄因子轉導入小鼠

纖維母細胞中，發現可驅動細胞再程式化 (reprogramming) 為多能型幹細胞狀態，因此將這類細胞稱為誘導型多能幹細胞 (induced pluripotent stem cells, iPSC)。隔年該團隊再次成功將人類皮膚細胞誘導成為 iPSC，使這個技術突破了胚胎幹細胞使用上的爭議與限制。由於 iPSC 建立技術再現性高，且可避免破壞胚胎所引起的道德爭議，使科學家可自行建立大量 iPSC 進行研究，因此開啟了 iPSC 研究的熱潮。

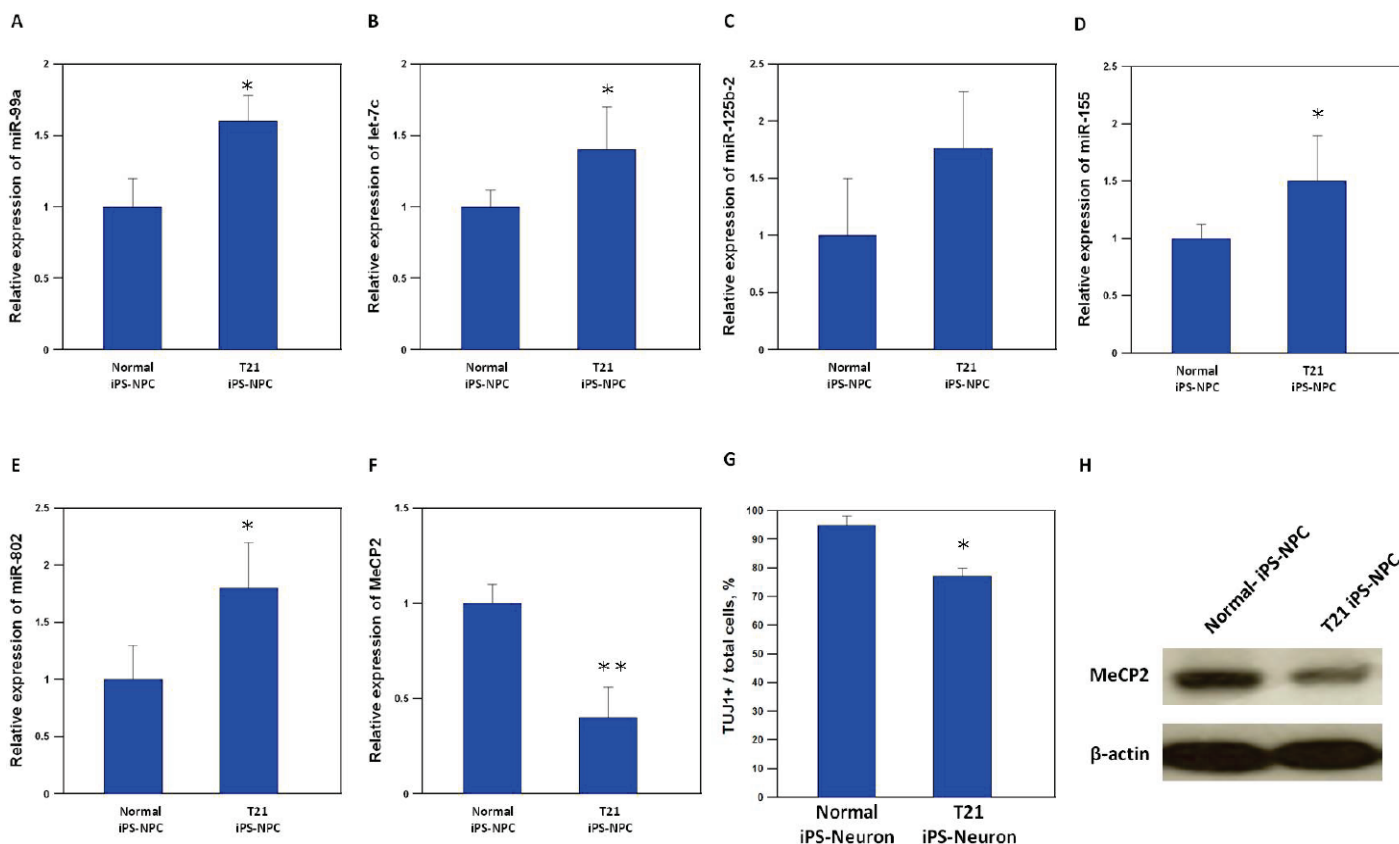
iPSC 技術可誘導個體本身的體細胞建立出符合自體基因型的幹細胞，在臨床醫療上有極高的治療應用潛力。除此之外，在基礎疾病研究中常受限於無法取得適當的疾病細胞，然而透過 iPSC 技術，可將病患疾病細胞

建立成疾病 iPSC，在體外即可誘導成表現疾病特徵細胞模式，作為基礎研究模式或篩選藥物平台用。透過建立出的單一基因疾病 iPSC，使研究者可得到源源不絕的特殊疾病的 iPSC，可深入研究致病機制，進一步發展出更適當的新療法。唐氏症是常見於胎兒的先天性遺傳疾病，主要由三倍體染色體 21 (Trisomy 21) 所造成。常見的臨床症狀為神經發育遲緩所導致的智能發展不足。現階段临床上可藉由羊膜穿刺檢測羊水 (amniotic fluid, AF) 細胞的染色體得知胎兒是否患有 Trisomy 21。為了於體外研究 Trisomy 21 所造成之神經發育影響，所仰賴的即是一個可成功模擬整個神經發育的細胞模型。因此本研究取由羊膜穿刺篩檢出具 Trisomy 21 之羊水細胞，利用 iPSC 技術導入表現 Oct4, Sox2, c-Myc 及 Klf4 四個基因後，建立由羊水細胞重新再程式化後具有 Trisomy 21 之 iPSC (圖一)。藉由 iPSC 分化能力，將其分化成神經前趨細胞及神經細胞，於體外模擬 Trisomy 21 神經細胞發育之過程以供研究。由實驗結果證實，本研究可成功建立具有分



圖一、T21 AF-iPSC 外觀與染色體核型。<sup>(4)</sup>

(A) T21 AF-iPSC 外觀、(B) T21 AF-iPSC 維持特殊 Trisomy 21 染色體核型。



圖二、Trisomy 21 NPC 之 miRNAs、MeCP2 mRNA、MeCP2 蛋白質表現量與神經分化效率。<sup>(4)</sup>

(A) miR-99a、(B) let-7c、(C) miR-125b-2、(D) miR-155、(E) miR-802、(F) MeCP2、(G) 正常 iPS-NPCs 與 T21 iPS-NPCs 神經分化效率、(H) 正常 iPS-NPCs 與 T21 iPS-NPCs MeCP2 蛋白質表現量。

化能力之 Trisomy 21 iPSC (T21 AF-iPSC)，並且可將其分化為神經發育前趨細胞 (neuronal progenitor cell, NPC)。進一步分析這些 NPC 結果顯示，座落於 21 號染色體上之五個候選 miRNA (let-7c, miR-99a, miR-125b-2, miR-155, miR-802) 其表現量皆高於正常 iPS 所分化的神經前趨細胞約 1.5 倍 (圖二、A ~ E)，而 miR-155 與 miR-802 之神經發育標的基因 -MeCP2 則受到過度抑制而有顯著低表現 (圖二、F & H)。將 NPC 分化成神經細胞的研究結果發現，T21 iPS-NPC 分化成神經細胞的能力亦較差 (圖二、G)。本研究藉由羊水細胞建立之 T21 AF-iPSC，可成功在體外模擬唐氏

症病患神經發育過程，且由於 MeCP2 在整個神經細胞發育扮演著重要角色，因此推測 21 號染色體之 miRNA 過量表現所導致 MeCP2 低表現量，為唐氏症病患神經發育遲緩因素之一。此部分的研究成果已發表在 2013 年 2 月份的 Experimental Cell Research 期刊。

### 參考文獻

1. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science. 1998; 282:1145-7.
2. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem

cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell. 2006; 126:663-76.

3. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell. 2007;131:861-72.
4. Lu HE, Yang YC, Chen SM, Su HL, Huang PC, Tsai MS, Wang TH, Tseng CP, Hwang SM. Modeling neurogenesis impairment in Down syndrome with induced pluripotent stem cells from Trisomy 21 amniotic fluid cells. Exp Cell Res. 2013; 319:498-505.



## CAS 冷凍技術於人類胚胎幹細胞保存之應用

生資中心 / 兼任副研究員  
林佩宜

人類胚胎幹細胞 (human embryonic stem cell) 是從囊胚的內細胞團 (inner cell mass) 分離建立得來，具有無限制增生及分化為成體內三個胚層之各種組織的能力，為一種多能性幹細胞 (pluripotent stem cell)，其具有作為藥物篩選平台、細胞治療及再生醫學的發展潛能。然而，人類胚胎幹細胞除了較具有道德倫理爭議的問題外，要使其從分離、建立、培養、誘導分化至直接應用到人體，皆須達到臨床應用的等級，還有很大的改善進步空間。

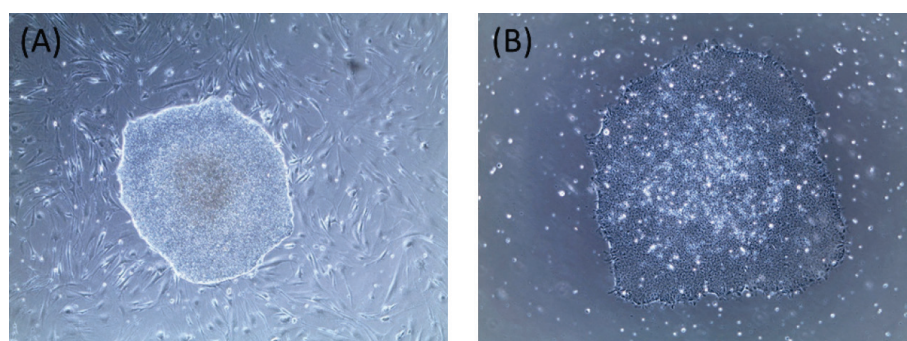
人類胚胎幹細胞相較於其他一般細胞株在培養的步驟上較為繁複，除了必須培養於餵養細胞 (feeder cell) 或特殊的細胞外間質 (extracellular matrix) 上之外 (圖一)，且必須以團塊 (clump) 的方式生長繼代，才可使其維持於未分化狀態及保有分化成三胚層的能力。除了在培養上較為麻煩，凍後存活率低的問題亦影響了其未來的應用發展。目前人類胚胎幹細胞的冷凍保存方式主要可分為二種，一種為傳統的慢速降溫法，利用常見的 Mr. Frosty 或等速降溫機來控制溫度下降的速率，操作上簡易且可達到較大的細胞保存量，但將此技術應用於人類胚胎幹細胞卻可能因冷凍過程中團塊的結構遭受破壞而影響凍後細胞的存活率；另一種為玻璃化法 (vitrification)，即利用毛細管裝填細胞的方式直接置入液

態氮內，雖可因急速降溫的過程降低冷凍對細胞的傷害，因而得到較高的凍後存活率，但其缺點為操作人員需具備純熟的技術，以及無法進行有效率的大量化凍存。因此，對於人類胚胎幹細胞庫要如何在質與量上皆能達到更有效率的保存，這二種冷凍保存技術的改善儼然成為目前科學家們關注的課題。

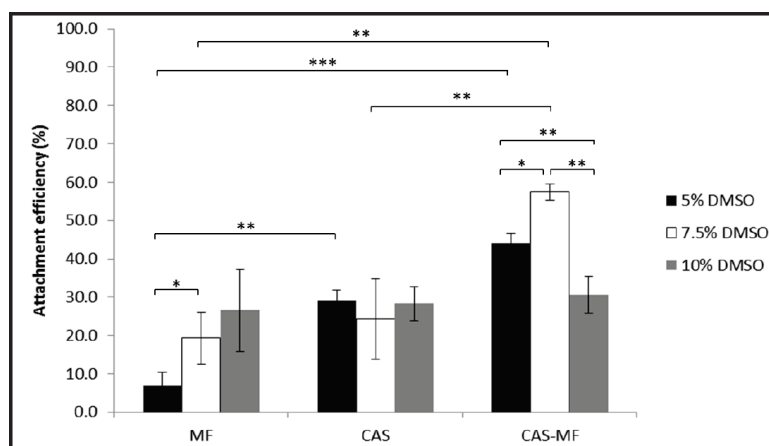
由日本 ABI 公司所研發的 Cell Alive System (CAS) 機器為

一個結合動態磁場的等速降溫機，即在降溫過程中加入磁場的作用使水分子振動而抑制細胞內外冰晶的形成，進而降低冰晶所造成的冷凍傷害。這個技術最初為應用於食品的冷凍保存，解凍後的肉類、水果等皆可保持原有的食物口味及香氣，近年來則有研究團隊將其應用於牙髓幹細胞 (dental pulp stem cell) 的冷凍保存或牙齒銀行，然目前尚未搜尋到有研究團隊發表將 CAS 技術應用於胚胎幹細胞的相關文獻。

生資中心細胞單元與台北醫學大學牙齒銀行暨牙齒幹細胞科技研究中心李勝揚教授合作，將 CAS 技術應用於人類胚胎幹細胞的冷凍保存。從實驗結果發現人類胚胎幹細胞在利用 CAS 技術降溫至零下 32 度後，緊接著以預冷



圖一、人類胚胎幹細胞體外培養之細胞型態。人類胚胎幹細胞培養於 (A) 餵養細胞 (feeder cell) (B) 特殊細胞外間質 (Matrigel) 上。<sup>(2)</sup>



圖二、人類胚胎幹細胞經三種方法解凍後七天之細胞貼附率。MF (Mr. Frosty)；CAS (Cell Alive System)；CAS-MF (結合 CAS 與 MF)。<sup>(2)</sup>



的 Mr. Frosty 繼續降溫至零下 80 度的實驗組，其凍後的細胞存活率明顯較單純使用 Mr. Frosty 降溫至零下 80 度的控制組來得高，且經過 CAS 技術解凍後的細胞仍可維持於未分化狀態及三胚層的分化能力 (圖二)。另一發現為在冷凍過程中藉由動態磁場的幫助，亦可將冷凍保護劑二甲基亞砷 (DMSO) 的濃度從一般人類胚胎幹細胞所使用的 10% 降低至 7.5%，這將可減少冷凍保護劑對細胞所造成的傷害，這項研究將有助於人類胚胎幹細胞庫的建

立，此研究成果亦已於 2013 年 3 月被 Cryobiology 期刊接受發表。

由於人類胚胎幹細胞的特殊細胞特性，雖然目前離真正進入臨床治療還有一段距離，待未來各研究團隊一一克服改善其所面臨的種種問題，期許不久後將可看到人類胚胎幹細胞實際的臨床應用例子。

### 參考文獻

1. Lee SY, Huang GW, Shiung JN, Huang YH, Jeng JH, Kuo TF, Yang JC, Yang WC. Magnetic

cryopreservation for dental pulp stem cells. Cells Tissues Organs. 2012; 196:23-33.

2. Lin PY, Yang YC, Hung SH, Lee SY, Lee MS, Chu IM, Hwang SM. Cryopreservation of human embryonic stem cells by a programmed freezer with an oscillating magnetic field. Cryobiology (doi:10.1016/j.cryobiol.2013.02.061, in press).
3. 網頁: <http://casfresh.trustpass.alibaba.com/>

## 生資中心 101 年度可移轉技術列表

|      |                                                                                                                                                         |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 技術名稱 | 台灣本土海洋不完全真菌發酵庫                                                                                                                                          |
| 技術現況 | 目前由海洋真菌所獲得的新化學物質，有三分之二是由海綿、海藻、海底底泥中所分離的不完全菌產生。從已收集保存數百株台灣海洋不完全真菌中，挑選 90 餘株，利用不同發酵條件，建立多樣化的本土不完全真菌發酵樣品，可開發新的生理活性物質。                                      |
| 技術規格 | <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 400 株台灣海洋不完全真菌的菌種庫。</li> <li>◆ 台灣海洋不完全真菌的發酵庫共計約 300 個樣品數。</li> </ul>                                           |
| 應用潛力 | 海洋真菌所得到的二次代謝物已成為新藥物研發的重要來源之一，且發現這些化合物具有高度的多樣性和生理活性，包括抗菌、抗病毒、抗腫瘤、抗凝血等。                                                                                   |
| 技術名稱 | 抗發炎新化合物生產菌株及其發酵生產技術                                                                                                                                     |
| 技術現況 | 長期慢性發炎可能導致心血管、糖尿病、過敏、關節炎及癌症等疾病，避免慢性發炎有助於減少上述疾病的發生。本研究由可食用的微生物中，發現新化合物 (NC001) 可抑制發炎相關的 iNOS 基因表現、抑制發炎引發之 NO 產生及促發炎細胞激素 IL-6 之分泌。                        |
| 技術規格 | <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 在固態發酵基質中抗發炎新化合物 (NC001) 生產菌株 UA12，NC001 產量 &gt;1 g/kg。</li> <li>◆ 生產菌株 UA12 之發酵生產條件。</li> </ul>                |
| 應用潛力 | 台灣心血管、關節炎等慢性疾病相關保健食品市場超過 20 億台幣，具抗發炎功效的保健產品的應用潛力佳。                                                                                                      |
| 技術名稱 | 白藜蘆醇回收製程技術                                                                                                                                              |
| 技術現況 | 目前在國內尚未有以微生物轉化方式生產白藜蘆醇的相關技術，而國際上以微生物生產白藜蘆醇的相關技術亦尚未成熟，一般而言植物中白藜蘆醇含量較高為虎杖等，然其白藜蘆醇需再經一連串純化方能提高產量；此外以花生生產白藜蘆醇，其量產之生產製程亦有其限制。                                |
| 技術規格 | <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 以虎杖為基質進行放大至 2000 公升發酵槽生成白藜蘆醇，基質轉化率可達到 60% 以上。</li> <li>◆ 建立一套回收純化白藜蘆醇方法，將白藜蘆醇純度提高至 50% 以上。</li> </ul>          |
| 應用潛力 | 白藜蘆醇具有抗老化的功能，並且可以降低糖尿病、肝病、心臟病、癌症及其他肥胖相關疾病的罹患機率，其抗氧化、抗發炎及血管舒張等功能亦是許多研究者的研究標的；這些訴求使白藜蘆醇成為保健食品甚至於新藥品的熱門選擇。目前白藜蘆醇單價較高，國際市場的需求廣大，未來市場前景良好；因此，白藜蘆醇未來的產值將令人期待。 |

|      |                                                                                                                                                                                                                   |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 技術名稱 | 機能性成份多重包埋技術之開發與應用                                                                                                                                                                                                 |
| 技術現況 | 目前市場上常見之保健食品，多以單一機能性物質做為產品的主軸，複方產品較為少見。因此藉由多重包覆的複方載體概念，結合共凝聚系統與脂質載體系統，建立新穎性配方技術，開發複方機能性成分產品，可以有效的同時攝取多種機能性物質、提昇保健配料的應用性，使其不會侷限於傳統單一機能性物質的產品形式，且產品也可具有更多樣化的應用。                                                     |
| 技術規格 | <ul style="list-style-type: none"> <li>藉由共凝聚系統的開發，與過往建立的脂質載體系統，產生多層包覆的概念，水溶性成分與脂溶性成分包埋率可達 60% 以上。</li> <li>以多種機能性物質的包埋，並針對其抗氧化能力進行相關的評估，添加產品 20 mg/ ml 可達到 90% 以上的 DPPH 清除率。</li> </ul>                           |
| 應用潛力 | 2011 年台灣保健食品銷售額突破 900 億元。估計未來 3 年，保健食品市場年成長率可達 10% 以上。顯示近年來民眾對於保健食品的需求逐年攀升，成為個人養生保健的最佳途徑。因此提供新穎的包埋技術於保健食品的開發上，可增進保健配料之間的功能訴求，協助業者在日益成長的保健配料市場佔有一席之地。                                                              |
| 技術名稱 | 乳酸菌於穀豆類產品保鮮之應用技術                                                                                                                                                                                                  |
| 技術現況 | <ul style="list-style-type: none"> <li>具抑制穀豆類產品常見絲狀真菌之優良乳酸菌株。</li> <li>抑制常見穀豆類發霉（腐敗）如 <i>Aspergillus</i> 屬、<i>Penicillium</i> 屬、<i>Eurotium</i> 屬、<i>Eupenicillium</i> 屬之絲狀真菌。</li> </ul>                         |
| 技術規格 | <ul style="list-style-type: none"> <li>可抑制四屬穀豆類產品常見絲狀真菌之乳酸菌株篩選平台與技術。</li> <li>5 公升發酵最適化工業用培養基及生產製程。</li> </ul>                                                                                                    |
| 應用潛力 | 本技術開拓乳酸菌之應用領域，篩得適用於穀、豆類產品之優良本土乳酸菌株，對於穀豆類常見之腐敗真菌 <i>Aspergillums</i> 、 <i>Penicillium</i> 、 <i>Eurotium</i> 、 <i>Eupenicillium</i> 等菌屬均有抑制作用，可有效延長穀、豆類製品的貨架時間。                                                     |
| 技術名稱 | 致癌因子及發炎因子調節活性篩選技術                                                                                                                                                                                                 |
| 技術現況 | <ul style="list-style-type: none"> <li>致癌因子及發炎因子調節活性分析，評估各種樣本之抑制癌症及抑制發炎的功效。</li> <li>以 wnt 訊息傳遞途徑之訊號強弱作為抑制癌症之活性指標。</li> <li>以發炎相關細胞激素之分泌量作為抑制發炎之指標。</li> <li>可對萃取物、天然物、或純化合物樣本進行功效評估，只需小量樣本，提供高通量快速服務。</li> </ul> |
| 技術規格 | <ul style="list-style-type: none"> <li>以多孔盤細胞培養方式分析。</li> <li>低樣本需求量：化合物 100<math>\mu</math>g；萃取物 1mg。</li> <li>分析之訊號雜訊比 S/N <math>\geq</math> 5.0。</li> </ul>                                                    |
| 應用潛力 | 國內業界並無對外提供此類之快速分析服務                                                                                                                                                                                               |
| 技術名稱 | 人類性荷爾蒙調節活性篩選技術                                                                                                                                                                                                    |
| 技術現況 | <ul style="list-style-type: none"> <li>人類主要性荷爾蒙調節活性分析，包括女性荷爾蒙、男性荷爾蒙、及黃體素等調節功效分析。</li> <li>平台具彈性，可對萃取物、天然物、或純化合物樣本進行功效評估，只需小量樣本。</li> <li>提供高通量快速服務，也提供已經篩到具功效的潛力菌種或發酵物供後續開發。</li> </ul>                           |
| 技術規格 | <ul style="list-style-type: none"> <li>以培養之人類細胞於 96 孔盤中進行快速分析。</li> <li>低樣本需求量：化合物 100<math>\mu</math>g；萃取物 1mg。</li> <li>靈敏度高，z factor <math>\geq</math> 0.5。</li> </ul>                                         |
| 應用潛力 | 國內業界並無對外提供此類之快速分析服務                                                                                                                                                                                               |



|      |                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 技術名稱 | 養生照護配方食品技術開發                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 技術現況 | 養生照護配方食品技術開發主要是針對食品原料之處理，許多加工技術會使原料與光、熱或空氣接觸造成機能性成分的變化，減少機能性成分的作用，而本技術利用乳化技術提高油溶性配方 $\beta$ -carotene 在飲料加工品之穩定性及搭配微膠囊技術提高水溶性成分安定性。                                                                                                                                      |
| 技術規格 | <ul style="list-style-type: none"> <li>提供不同油溶性成分乳化飲品製程技術測試及穩定製程條件。</li> <li>含 <math>\beta</math>-carotene 油脂之乳化飲品常溫儲存超過 6 個月仍保有原色澤及乳化穩定態。</li> <li>乳化飲品 <math>\beta</math>-carotene 成分分析。</li> <li>水溶性機能性成分乳化微膠囊製程技術條件。</li> <li>經處理之酵素產品經兩週保存仍維持 90% 以上酵素活性。</li> </ul> |
| 潛力預估 | 利用本技術可開發各種不同機能性成分具潛力之養生照護配方食品，可維持油溶性成分的乳化穩定性及水溶性成分的安定性，極具市場潛力。                                                                                                                                                                                                           |
| 技術名稱 | 高活性植物雌激素之生物轉換生產技術                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 技術現況 | 植物雌激素可預防骨質疏鬆症、改善女性更年期不適、減低多種癌症的發生等，不會像服用動物雌激素有身體不適或引發癌症的副作用。但與動物體內雌激素相較，天然原料中所含之植物雌激素活性通常很低，本技術以微生物生產高活性植物雌激素，可有效提升其雌激素活性，生產功效更強的植物雌激素產品。                                                                                                                                |
| 技術規格 | 可生產 2 種以上高活性植物雌激素衍生物之潛力菌株，及其 1 公斤級固態發酵製程。                                                                                                                                                                                                                                |
| 潛力預估 | 本技術平台可以轉化多種不同原料中的植物雌激素，使其發酵產物中的活性增加，以獲得功效更強的植物雌激素產品。                                                                                                                                                                                                                     |
| 技術名稱 | 微生物纖維素含銀抗菌敷料之製備技術                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 技術現況 | 目前市售含銀抗菌敷料使用的載體材質如不織布、泡棉及海藻膠等，產品多為乾式多層膜型態，在傷口的治療上無法保持創面的濕潤，其不透明性造成不易觀察傷口情況，且吸收滲液的能力仍偏低等缺失。微生物纖維膜結合各材質之優勢，若能建立具抗菌性的微生物纖維素生產技術，將可改善目前市售抗菌敷料之缺失，亦可替代國外進口之相關敷料產品。                                                                                                            |
| 技術規格 | <ul style="list-style-type: none"> <li>利用微生物纖維素作為主要載體，與抗菌物質結合，膜片中銀含量為 <math>3 \text{ mg}/100 \text{ cm}^2</math> 以上。</li> <li>抗菌效果對金黃色葡萄球菌、綠膿桿菌達 99% 以上之滅菌率。</li> <li>保有微生物纖維素保濕不易沾粘傷口、透明易觀察傷口等特性，為一新型半濕式之抗菌敷料。</li> </ul>                                               |
| 潛力預估 | 以微生物纖維作為膜材開發之功能性敷料，現階段在市場仍無相關之產品，根據 Frost & Sullivan 於 2005 年的統計，2001 年先進敷料的市場規模為 10.66 億美元，至 2004 年市場規模為 14.90 億美元；推估至 2011 年市場將成長至 30.57 億美元，2014 年更可以成長到 66.4 億美金。本項產品的研發可應用在燒燙傷、慢性疾病傷患之傷口照顧，不僅減低健保及傷患之醫藥支出，且可使患者達到更佳的傷口照護效果。                                         |
| 技術名稱 | 利用生物轉化技術生產機能性豆類產品                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 技術現況 | 本技術以豆類為培養基素材，進行乳酸菌及其他微生物具抑制發炎特性之機能產品開發。已篩選出數株具抑制發炎功效之潛力菌株，在細胞株實驗中，發酵液即具有明顯的抑制發炎效果，以乳酸菌為例，潛力菌株之酸耐性、膽鹽耐性及氧氣耐受性皆有優良表現，對於腸道細胞之附著性亦佳，深具開發為機能性產品之潛力。                                                                                                                           |
| 技術規格 | <ul style="list-style-type: none"> <li>抑制 NO 等發炎因子之評估系統。</li> <li>具抑制發炎功效之乳酸菌（或其他微生物）發酵產物的生產技術。</li> </ul>                                                                                                                                                               |
| 潛力預估 | 利用乳酸菌或其他可食用微生物作為農產原料加工的手段，不但可提高農產品的附加價值，且提供消費者更多元化的產品選擇。本技術是利用生資中心豐富的微生物資源，結合豆類的高營養價值，以開發具抑制發炎之機能性生技食品。                                                                                                                                                                  |

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 技術名稱 | 酵母菌於 SOD 酵素之開發與應用                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 技術現況 | SOD 來源主要有動物血液或肝臟萃取、植物細胞萃取與微生物等三類來源，動物來源易發生交叉感染或過敏反應等問題；植物來源又有季節性的限制，因此選育高產 SOD 微生物進行發酵生產是較有經濟效率的方式。本計畫以 GRAS 酵母菌進行篩選，獲得高活性之菌株有助於進行後續產品製程開發。                                                                                                                                           |
| 技術規格 | 本計畫以建立 GRAS 酵母菌進行 SOD 酵素之開發技術，主要技術規格目標： <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 篩選具有高 SOD 比活性之 GRAS 之酵母菌株。</li> <li>◆ 以高壓玻璃珠研磨 SOD 萃取方式，提升萃取效率。</li> <li>◆ 利用 UV 突變方法，得到高產量之 SOD 突變株。</li> <li>◆ 以實驗設計法方式建立 SOD 最適化生產條件，整體而言 SOD 產量達 2,388U/mg，為原始菌株的三倍。</li> </ul>                  |
| 潛力預估 | 利用酵母菌進行開發生產 SOD，既可改善來自動物來源之 SOD 產率不穩與產量不足外，同時亦可提高產品的安全性。由於微生物發酵來源的 SOD 具有較經濟、產率高、易培養等優點，是現今開發之抗氧化、延緩老化之重點項目之一，利用酵母菌易於大規模生產的特性，開發生產 SOD 極具市場潛力與產業優勢。                                                                                                                                   |
| 技術名稱 | 微生物配料產品之開發技術                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 技術現況 | 機能性素材與配料成分廣泛應用於食品產業，尤其以保健食品與飲料業者，兩者均為機能性成分應用之最大宗，可提高其產品的附加價值。然而根據本所調查顯示約七成台灣保健機能性素材都來自於國外，因此如何自行開發創新之素材與配料，已成為近年來台灣發展保健食品產業上重要的課題。目前已有不少國內廠商也開始利用發酵生產的優勢、配方技術和特殊菌種的使用，切入部分功效驗證，如納豆激酶、紅麴等，然而其他更多的機能性素材生產與完整的開發技術仍須突破。                                                                  |
| 技術規格 | 技術重點包括建立機能性素材成分分析平台，潛力菌株之篩選、突變、培養基組成之探討，不同機能性成分之功能性評估，自搖瓶、5L、20L 放大培養至 250L 發酵規模，回收純化製程之建立以及新穎性配方與配料產品之開發。 <ul style="list-style-type: none"> <li>◆ 進行機能性成分分析平台建立。</li> <li>◆ 機能性素材潛力菌株篩選。</li> <li>◆ 潛力微生物最適發酵條件與放大。</li> <li>◆ 機能性素材純化與回收。</li> <li>◆ 機能性素材新穎性產品開發與劑型調整。</li> </ul> |
| 潛力預估 | 2011 年保健食品市場規模為新台幣 896 億元，廠商數超過 900 家。台灣保健食品使用原料相當多元化，其中利用微生物發酵生產的保健素材相較於動植物來源其質與量上相對穩定，尤其以本土藻類、菇蕈類和紅麴等微生物更具開發潛力，因此微生物發酵保健素材可作為國內保健食品往上游關鍵原料扎根的主要標的。建立以微生物配料生產製程、回收純化及包埋技術，可提供後續放大生產之基礎，適用於生技、食品、飲料、化妝品或生醫材料等領域。                                                                      |

有興趣瞭解上述可移轉之技術內容，請聯繫本所生資中心窗口，電話 03-5223191 轉 511 李小姐。

### 生物資源保存及研究簡訊 第93期

發行者：財團法人 食品工業發展研究所  
 發行人：陳樹功所長  
 主 編：陳倩琪  
 編 輯：王俐婷、吳柏宏、許璦文、黃學聰

本著作權依補助契約歸屬財團法人 食品工業發展研究所

地 址：新竹市食品路 331 號  
 電 話：(03)5223191-6  
 傳 真：(03)5224171-2  
 承 印：國大打字行  
 電 話：(03)5264220  
 ISSN：1021-7932  
 GPN：2009001214  
 中華郵政新竹誌字第0030號  
 交寄登記證登記為雜誌交寄

