

**跨領域永續研究整合型計畫：
臺灣國立大學系統年輕學者創新性合作計畫執行報告格式**

| | |
|---------------|--|
| 申請單位 | 國立彰化師範大學、國立中興大學、國立嘉義大學 |
| 總計畫主持人 | 吳向宸 助理教授 |
| 總計畫名稱 (中文) | 開發結合光觸媒與鹼性酵素工程生產保健添加物甘胺酸之負碳技術 |
| 總計畫名稱 (英文) | Development of a novel carbon-negative technique to produce value-added glycine as a health supplement by combining photocatalyst with alkaliphilic enzyme transformation |
| 子計畫主持人 | 高琨哲助理教授、吳向宸助理教授、張文昌助理教授 |
| 中文摘要 | <p>本跨領域整合型永續研究計畫期望結合光觸媒與酵素工程針對二氧化碳固定進行新興負碳技術開發，並期望轉化生產甘胺酸之高質化產物做為保健品添加物，以期達到淨零排放與循環經濟之雙重永續發展技術之推展。具可見光與近紅外光吸收能力之表面電漿奈米結構是近年來最受關注的光觸媒材料，其獨特的光物理與光化學性質主要來自其局部表面電漿共振。此計畫主要目標是開發具表面電漿共振特性之奈米晶體，以氧化鎢取代傳統貴重金屬材料，並透過界面化學調控，與載體材料形成複合奈米結構。透過電子顯微鏡、X-光光電子能譜與各種光譜鑑定，詳細了解觸媒之物理化學性質。在低溫 225 °C，反應速率在照光時能大幅增強約 3.6 倍，且在照光下的活化能(59.7 kJ/mol)約只有單純熱催化反應(115.2 kJ/mol)的五成左右。此結果顯示表面電漿光催化劑在照光下可能提供了新的反應路徑。於酵素工程部分，子計畫透過整合 KEGG、JGI、NCBI 等多重生物資訊資料庫系統，由已定序完成之染色體基因生物資訊中，完成 16,008 組資料具還原性甘胺酸合成途徑潛在能力菌種族群之交互比對，其同時具備四個關鍵酵素基因之菌株共 8,869 組。與 BacDive 之菌種生理特性比對取得 68 組嗜鹼性菌株，從中挑選四株作為未來酵素工程驗證</p> |

對象，並完成酵素異體表現純化載體設計。而針對甘胺酸保健效用部分，子計畫選用正常小鼠肝臟細胞 (FL83B) 與油酸誘導肝臟細胞堆積之體外模式系統評估甘胺酸抑制脂質堆積之作用並進一步了解麩胱甘肽抗氧化酵素系統於此扮演之作用機制。結果顯示，甘胺酸濃度 10mg/mL 下有最佳抑制脂肪堆積之效力，而麩胱甘肽還原酶及過氧化酶之活性也隨著濃度增加而提升，但未達顯著差異，因此推測甘胺酸抑制脂質堆積之機制，可能透過本身結合油酸誘導物而非提升細胞內抗氧化酵素之能力來減少脂質之生成。

英文摘要

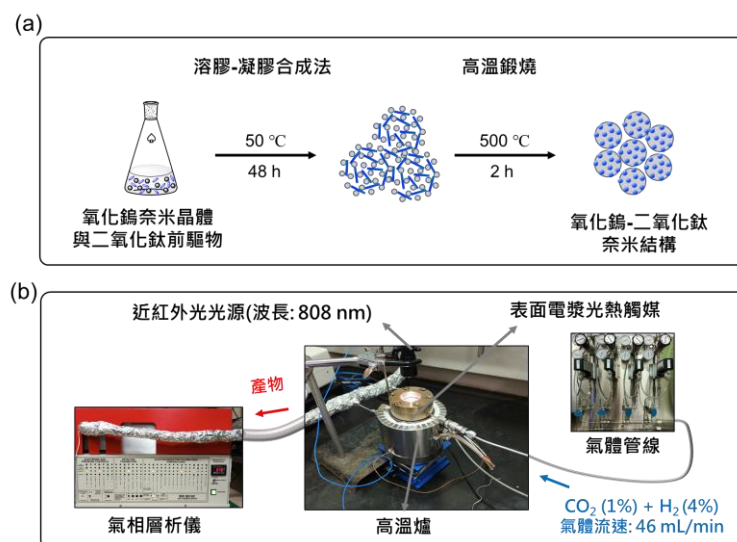
Plasmonic nanostructures recently have been considered as promising photocatalysts due to their unique photophysical and photochemical properties induced by localized surface plasmon resonance (LSPR). Here, we developed a synthetic approach for plasmonic WO_3 nanocrystals and employed a modified sol gel method to prepare WO_3 -based plasmonic nanocomposites. Electron microscopies, X-ray photoelectron spectroscopy, and various spectral analysis are used to characterize the morphology, chemical composition, and optical property of the plasmonic catalysts. Combining photothermal effect and hot carrier transfer induced by LSPR, the developed WO_3 - TiO_2 catalyst shows greatly enhanced CO_2 conversion rates at low temperatures with a much lower activation energy under light irradiation ($\lambda = 808 \text{ nm}$). For the enzymatic engineering, our subproject performed macroanalysis across multiple bioinformatic databases, including KEGG, JGI, and NCBI databases. After screening and exploring 16,008 finished sequencing genomic data for the prokaryotes, 8,869 bacterial strains were targeted to have the complete functional genes related to the reductive glycine pathway. Moreover, there were 68 bacterial strains belonging to the alkaliphiles. By accompanied with the BacDive database to figure out their physiological characteristics, four alkaliphilic bacteria strains were selected as the candidates for our further enzymatic engineering experiments for the carbon dioxide fixation under alkaline condition and the glycine production. We evaluated inhibition of lipid accumulation by glycine in oleic acid-induced lipid synthesis on mouse hepatocyte (FL83B) cells. We further understand the mechanism of the glutathione antioxidant

enzyme system in the inhibition of lipid production by glycine. The concentration of glycine at 10mg/mL has the best ability to inhibit lipid accumulation in mouse hepatocyte (FL83B) cells. The enzymatic activities of glutathione reductase and peroxidase increased with the dose of glycine in FL83B cells but the values did not reach statistically significant differences. We speculate that the mechanism may reduce lipid production by glycine binding to oleic acid inducers rather than enhancing the ability of intracellular antioxidant enzymes in mouse hepatocyte (FL83B) cells.

執行方法
及步驟

子計畫一：

此計畫的研究目標為開發具可見光與近紅外光吸收能力的表面電漿奈米光觸媒，並利用其特殊的光化學性質應用於二氧化碳還原反應。第一階段是合成具表面電漿共振特性之氧化鎢奈米晶體並與載體材料形成複合型觸媒。主要策略如圖一 a 所示，利用一獨特的溶膠-凝膠合成法，在疏水性溶劑中透過界面活性劑(油胺)使載體材料(二氧化鈦)前驅物與氧化鎢奈米晶體反應，經高溫鍛燒後形成均勻散佈之氧化鎢奈米複合材料。我們詳細完成材料的基礎鑑定並探討此表面電漿奈米結構之合成機制。第二階段則是負載金屬活性相形成表面電漿光觸媒並應用於光輔助二氧化碳氫化反應，致力於了解在照光激發下，觸媒反應的活性與選擇性(圖一 b)，並透過催化反應動力學探討可能的反應機制。



圖一、(a) 具表面電漿共振特性之氧化鎢-二氧化鈦光觸媒合成示意圖。(b)連續流動式光輔助二氧化碳氫化反應測量條件與裝置。

子計畫二:

近年來新發現之原核細菌還原性甘胺酸合成途徑，其具備以甲酸作為前驅物質並且固定二氧化碳進行甘胺酸合成的特性，為具備負碳特性之環境友善生物技術。此計畫的研究目標為鎖定此生化途徑之相關菌株進行負碳生物技術之開發並且期望獲得高值化甘胺酸產物作為未來應用。本計畫透過整合 KEGG、JGI、NCBI 等多重生物資訊資料庫系統，由已定序完成之染色體基因生物資訊中，交互比對具還原性甘胺酸合成途徑潛在能力之菌種族群。並且搭配 BacDive 菌種資料庫之分離地點與最適培養條件資料，篩選具有還原性甘胺酸合成途徑之嗜鹼性菌種，以作為後續還原性甘胺酸鹼性活性酵素之開發菌種材料。

執行方式為先以 KEGG 代謝途徑資料庫中針對還原性甘胺酸代謝途徑之關鍵酵素(本研究共針對 16 個潛在酵素進行調查)，於 JGI 微生物基因體資料庫中進行全類別族群交叉比對調查，共針對已完成染色體基因定序之資料對象，完成 16,008 組資料交互比對。此外，也以 pET-28a 載體序列為骨架，針對上述還原性甘胺酸代謝途徑之關鍵酵素基因，進行載體組裝設計之規劃，作為後續酵素異體表現純化之載體設計模板。

子計畫三:

(一) 細胞存活率及誘導劑量選擇

計算後加入培養液將細胞數目調整為 2×10^5 cell/mL，接種 200 μ L 之細胞液於 96 孔盤，於 5% CO₂、37°C 之恆溫培養箱中培養 24 小時待細胞貼附生長後將細胞液移除，加入不同濃度樣品或 0.5 mM BSA、2 mM 油酸誘導 24-48 小時。誘導完畢後移出誘導液，加入 Methylthiazolyldiphenyl tetrazolium bromide (MTT, 0.5 mg/mL F12K) 於 37°C 下避光反應 2 小時，移除 MTT 後加入 Dimethyl sulfoxide (DMSO) 並使用數位桌上型平面震盪器於暗室震盪 45 分鐘 (100 rpm) 以充分溶解 MTT 與粒線體中琥珀酸脫氫酶作用產生之藍紫色 Formazan 結晶，於 570 nm 下以連續波長酵素免疫分析儀 (Bio Tek Instruments, U.S.A.) 測定吸光值並以以下公式計算細胞存活率。

$$\text{細胞存活率 (\%)} = \Delta A_{\text{Sample}} / \Delta A_{\text{Control}} \times 100$$

(二)、脂質堆積試驗

參考 (Hsu et al., 2014) 的方法並加以修改，將細胞數目調整為 2×10^5 cell/mL 並於 96 孔盤培養 24 小時待細胞貼附生長後，移除細胞液加入不同濃度樣品及 0.5 mM BSA、2 mM 油酸誘導 24-48 小時。誘導完畢後移出誘導液，將誘導後之細胞以冰鎮的 PBS 洗滌 3 次，清洗乾淨後加入 10% 甲醛 60 分鐘以固定細胞。細胞固定後移出甲醛，以冰鎮的 PBS 洗滌 3 次，加入油紅溶液於 25°C 染色 30 分鐘，染色後用去離子水洗滌細胞以去除未結合的染料，清洗至吸取液透明，以光學顯微鏡觀察細胞內染色的脂滴，加入 isopropanol 避光搖動 10 分鐘，並於 490 nm 處以連續波長酵素免疫分析儀 (Bio Tek Instruments, U.S.A.) 測量吸光值以計算脂質積累。

油紅 (Oil red O) 溶液配置：以 5 mg/mL 溶於 isopropanol，超音波震盪 30 分鐘後，與 DD water 混合後 (Oil red O : DD water=3 : 2) 使用 0.22 μ m 過濾器過濾備用。

(三)、Glutathion reductase 活性分析

取不同濃度之甘胺酸於 37°C 反應 30 分鐘之細胞培養液，經過離心後，以 PBS 清洗，去除上清液，利用超音波細胞破碎機破碎，即為細胞質液。取 0.1 mL 細胞均質液與含有 1.1 mM $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 、5.0 mM GSSG 及 0.1 mM NADPH 之 100 mM 磷酸鈉緩衝溶液 (pH 7.0) 0.9 mL，於石英管中，迅速混合均勻，以分光光度計在 340 nm 下連續偵測 5 分鐘，計算 NADPH 減少之速率。酵素活性以 $E_{340} = 6220 M^{-1}cm^{-1}$ 計算，並以比活性 nmole NADPH/min/mg protein 表示其活性大小。

(四)、Glutathion peroxidase 活性分析

取不同濃度之元氣飲水萃取物於 37°C 反應 30 分鐘之細胞培養液，經過離心後，以 PBS 清洗，去除上清液，利用超音波細胞破碎機破碎，即為細胞質液。取 0.1 mL 細胞質液與含有 1 mM EDTA、1 mM NaN_3 、0.2 mM NADPH、1U/mL GSH reductase 及 1 mM GSH 之 100 mM 磷酸鈉緩衝溶液 (pH 7.0) 0.8 mL，於石英管中，迅速混合均勻，於室溫下靜置 2 分鐘，再加入 2.5 mM H_2O_2 ，以分光光度計在 340 nm 下連續偵測 3 分鐘，觀察 NADPH 減少之情形。酵素活性以 $E_{340} = 6220 M^{-1}cm^{-1}$ 計算，並以比活性 nmole NADPH/min/mg protein 表示其活性大小。

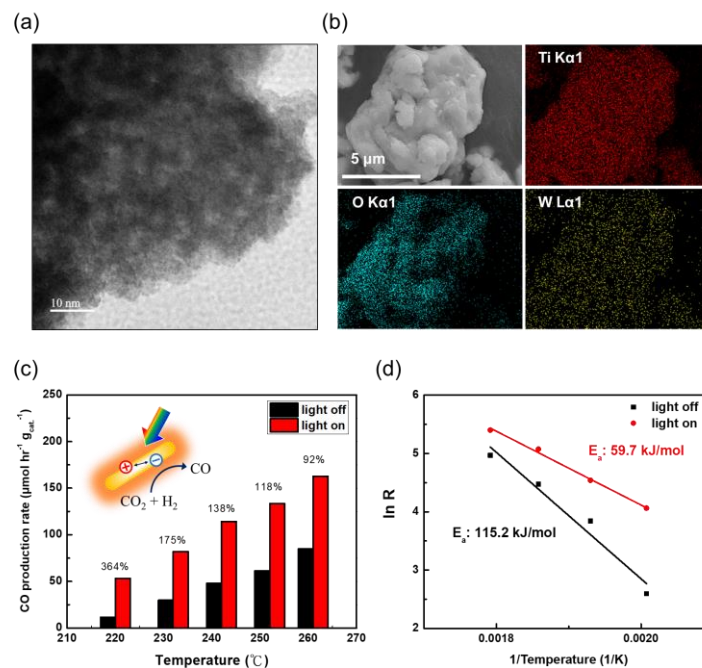
成果與
績效

子計畫一：

在第一階段材料的開發中，透過溶膠-凝膠法氧化鎢奈米晶體能吸附於各種氧化物載體材料上，但我們發現高溫鍛燒處理會使

得氧化鎢分解成更小的顆粒並再沈積於氧化物載體表面。如圖三 a 所示，氧化鎢負載於二氧化鈦，粒徑大小約 1 nm，X 光能量散射元素映射顯示鎢的訊號與鈦高度重疊，且氧化鎢負載量高達 47 wt.%，代表氧化鎢均勻且高密度分散於二氧化鈦表面。事實上，氧化鎢本身為強固體酸，此製備方法可廣泛套用於其它載體材料，形成同時具有表面強酸性點與吸光能力的奈米結構並應用於各式非均相催化反應。此特殊結構的形成機制在無機複合材料上亦有其獨特性值得再深入研究。

第二階段為催化劑活性量測。在負載鉑奈米粒子後，我們將催化劑平鋪於自製之光熱反應器，進行連續流動式光輔助二氧化碳氫化反應(圖一 b)。如圖三 c 所示，於不同溫度下測量照光前後二氧化碳轉化速率。在低溫 225 °C，反應速率在照光時能大幅增強約 3.6 倍。我們進一步求出照光前後的反應表觀活化能，在照光下的活化能(59.7 kJ/mol)約只有單純熱催化反應(115.2 kJ/mol)的五成左右。此結果顯示表面電漿光催化劑在照光下可能提供了新的反應路徑，我們推測氧化鎢吸光之後除了經光熱效應使得催化劑局部加熱而提升反應速率之外，表面電漿誘發的熱載子及其轉移機制亦可能促進二氧化碳的活化。

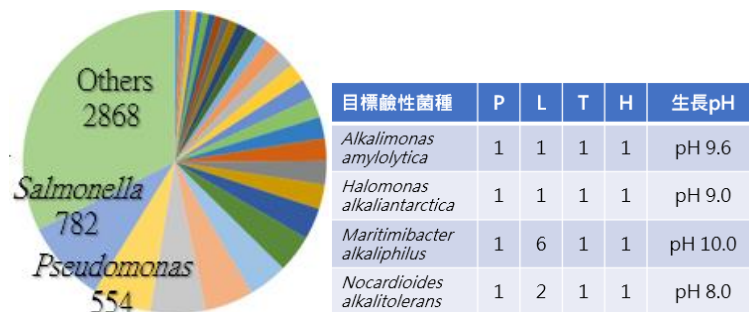


圖二、氧化鎢-二氧化鈦光觸媒之(a)高解析穿透式電子顯微鏡圖像與(b)X光能量散射元素映射。(c)照光前後二氧化碳氫化反應速率與(d)反應表觀活化能

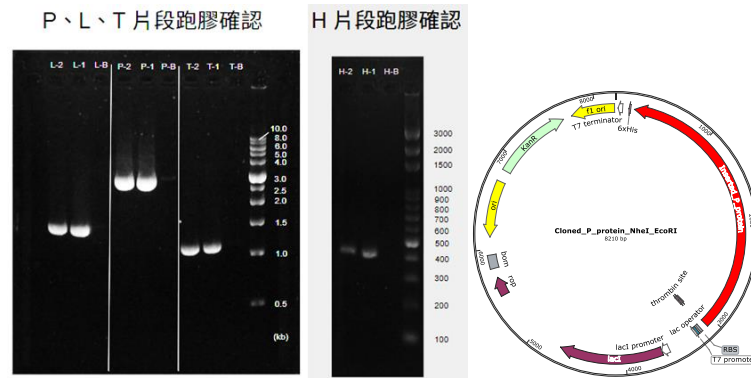
子計畫二:

在第一階段多重生物資訊資料庫交叉比對結果中，KEGG 資料庫中針對還原性甘胺酸代謝途徑關鍵酵素中，針對 gcvP 酵素具有 glycine dehydrogenase 及兩個 subunit 基因；針對 gcvT 酵素僅有 aminomethyltransferase 基因一組；針對 gcvH 同樣也僅有 GCSH 基因一組；針對 L 酵素則也僅有 dihydrolipoamide dehydrogenase 基因一組。將上述六組基因建立 JGI 之比對基因群後，針對全細菌分類進行完整定序對象之比對共 16,008 組，其比對成果依據菌屬分類可知，其同時具備四個關鍵酵素基因之菌株共 8869 組，其中又以 *Salmonella*、*Pseudomonas*、*Escherichia* 與 *Bordetella* 菌屬佔據較大的比例，分別為 8.8%、6.2%、5.9% 及 5.1%(參考分析結果圖一所示)。其中特別與 BacDive 之菌種生理特性比對分析可知，約包含 68 組嗜鹼性菌株，主要為 *Cuprivaoidus alkaliphilus*、*Chromobacterium alkanivorans*、*Gordonia alkanivorans*、*Halomonas alkaliantarctica* 等菌株為主。經過 BacDive 之菌種生理特性資料庫交叉比對結果可知，其中約有 19 株嗜鹼性菌較容易透過國際菌種保存中心取得，其生長 pH 範圍由偏弱鹼性之 7.6 至強鹼性 10.0；最終依據其生長 pH 之嗜鹼性程度搭配文獻調查中較廣泛研究之菌種對象作為未來之研究評估對象(如圖一表格所示)。

第二階段為異體酵素表現純化系統建構，使用 pET-28a 作為酵素表現純化系統之載體，經由 *E. coli* MG1655 菌株之還原性甘胺酸代謝途徑關鍵酵素進行初步規劃，由基因確認結果(圖二)可知，本計畫可成功由 *E. coli* MG1655 菌株中放大四個關鍵酵素基因，並且經由載體 in silicon 規劃結果可知，建構酵素表現載體可透過 EcoRI 與 NheI 限制酵素進行基因接合，並於表現酵素 N 端接合 6-His 胜肽標籤，以利後續酵素表現與純化(圖二)。



圖一、關鍵酵素目標菌株 JGI 資料庫分析結果(左)與具備還原性甘胺酸代謝關鍵酵素之嗜鹼性族群(右)。

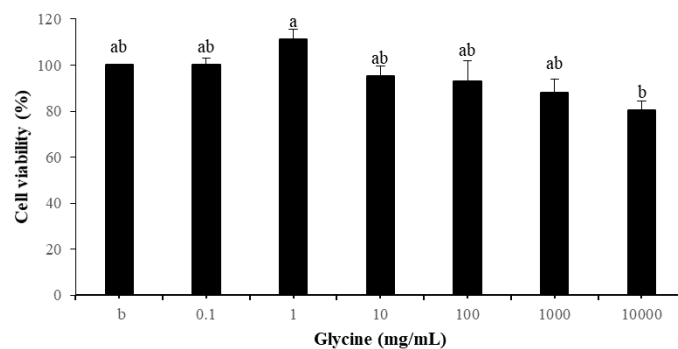


圖二、關鍵酵素基因 PCR 片段分析結果(左)與 pET-28a 載體建構設計規劃(右)。

子計畫三：

甘胺酸是合成嘌呤、血紅素、肌酸和麩胱甘肽 (Glutathione) 等分子中所必需存在的前驅化合物之一，同時其具有協助血液中釋放氧氣到組織細胞、幫助荷爾蒙的製造、免疫功能強化、肝臟解毒系統和神經功能保護等多種生物和生理作用 (Hitzel et al., 2018; Mardinoglu et al., 2017)，研究指出，甘胺酸於體內存量較低時會造成心臟代謝相關疾病的發生，包括肥胖、第二型糖尿病、代謝症候群與非酒精性脂肪肝等 (Li et al., 2018; Newgard et al., 2009)。

細胞存活率 MTT 試驗常用於評估各測試樣品對細胞生長及其抑制作用之影響，而本實驗為了解甘胺酸對脂質堆積之影響，因而於實驗前先利用甘胺酸對正常小鼠肝臟細胞進行細胞生長抑制測試，而於文獻及圖一結果中皆顯示甘胺酸對正常小鼠肝臟細胞 FL83B 無抑制其生長之狀況，唯有濃度大於 1000 mg/mL 下出現部分抑制作用，而其他文獻也指出當劑量過高會對腎臟細胞有所影響，因而本試驗後續皆以濃度 10 mg/mL 進行以下試驗。



圖一、不同濃度甘胺酸對小鼠肝臟細胞存活率之影響。

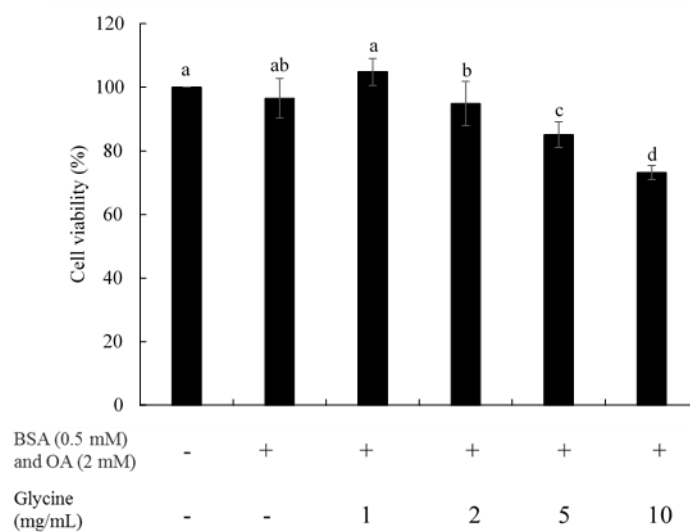
Figure 1. Effect of different glycine concentrations on the cell viability in FL83B cells.

Each value is expressed as mean \pm S.D. (n = 3).

^{a-b}Data bearing different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$).

葡萄糖、油酸和棕櫚酸是細胞所需的能量，細胞攝取的碳水化合物或脂肪酸會轉化為肝細胞儲存能量的糖來原或脂質 (Reccia et al., 2017)，然而細胞攝入過多的脂肪酸會使三酸甘油酯的合成增加或轉化為油滴積累，導致肝脂肪變性 (Hazlehurst et al., 2016)，因此本實驗使用油酸誘導小鼠正常肝細胞使其脂質積累作為脂肪肝體外細胞模式，並且參考本實驗室先前建立的油酸濃度進行順序誘導。

圖二為油酸與甘胺酸共處理對小鼠肝臟細胞存活率之影響，結果顯示，隨著樣品濃度提升其細胞存活率分別為 100、96.57、104.85、94.89、85.07、及 73.21，而甘胺酸於 1mg/mL ~ 5mg/mL 濃度下細胞存活率皆可維持在 80% 以上，顯示甘胺酸於此劑量下不會造成細胞毒性抑制其小鼠肝細胞生長，故後續將以甘胺酸 1、2 及 5 mg/mL 進行後續實驗。



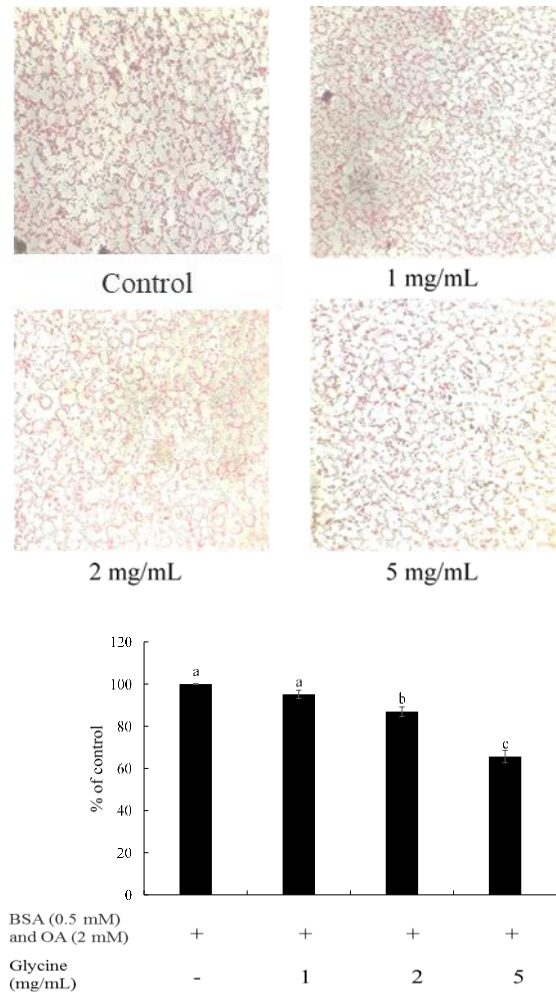
圖二、油酸與甘胺酸共處理對小鼠肝臟細胞存活率之影響

Figure 2. Effect of OA-BSA adducts and different concentrations of glycine concentrations on the cell viability in FL83B.

Each value is expressed as mean \pm S.D. (n = 3).

^{a-d}Data bearing different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$).

圖三為小鼠肝臟細胞經油酸誘導後脂質蓄積後油紅表現及量化圖。結果顯示，經油酸處理 24 小時後之組別與未處理組相比其脂質小滴顯著增加，並經油紅量化試驗後可得知脂質蓄積量顯著上升，但油酸與不同濃度之甘胺酸共處理 24 小時後，其脂質小滴有減緩之趨勢，經油紅量化試驗後可得知，油脂蓄積之情形分別下降了 7%、16% 及 32%。



圖三、不同濃度甘胺酸抑制小鼠肝臟細胞脂質含量生成之影響

Figure 2. Inhibition of lipid content on mouse liver cells in different concentrations of glycine.

Each value is expressed as mean \pm S.D. (n = 3).

^{a-c}Data bearing different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$).

還原性之麩胱甘肽是由 glutamate、cystenine 及 glycine 三種胺基酸所構成，它不但是水溶性抗氧化劑，更是抗氧化酵素的輔因子，而其還原態的 Grd 會與 GST 結合影響 ROS 生成過程中扮

演一個重要的角色，同時為維持細胞內穩定的氧化還原狀態，另 glutathione peroxidase (GPx) 亦扮演另一要角，因此本試驗直接進行細胞中該兩酵素活性之檢測，以了解其脂質堆積生成與細胞內抗氧化活性平衡之影響。結果顯示 (表一與表二)，經誘導脂質堆積之組別 (Control) 與不同濃度甘胺酸處理後之組別相比其活性皆較低，同時隨著甘胺酸處理濃度的增加有上升之現象，但於統計結果中顯示無顯著差異。雖於脂質生成之結果中發現其脂質堆積有下降的效果，但因本試驗進行時是將其誘導脂質生成物質與甘胺酸先進行混合後再添加於細胞中，故推測甘胺酸應該於添加前即與油酸等誘導物結合，進而減少油酸刺激正常肝細胞脂肪之堆積。

表一、不同濃度甘胺酸對小鼠正常肝細胞 (FL83B) 提升麩胱甘肽過氧化酶活性之影響

Table 1. Effects of different concentrations of glycine on glutathione peroxidase activity in mouse hepatocytes (FL83B) cells.

| Concentration (mg/mL) | GPx activity ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg protein}$)* |
|-----------------------|--|
| Blank | 1.10 \pm 0.30 |
| Control | 1.05 \pm 0.24 |
| 1 | 1.14 \pm 0.14 |
| 2 | 1.13 \pm 0.71 |
| 5 | 1.15 \pm 0.51 |
| 10 | 1.18 \pm 0.64 |

表二、不同濃度甘胺酸對小鼠正常肝細胞 (FL83B) 提升麩胱甘肽還原酶活性之影響

Table 2. Effects of different concentrations of glycine on glutathione reductase activity in mouse hepatocytes (FL83B) cells.

| Concentration (mg/mL) | GRd activity ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg protein}$)* |
|-----------------------|--|
| Blank | 6.75 \pm 0.27 |
| Control | 6.22 \pm 0.48 |
| 1 | 6.03 \pm 0.65 |
| 2 | 6.40 \pm 0.36 |
| 5 | 6.78 \pm 0.40 |
| 10 | 7.11 \pm 0.51 |

| | |
|-----------------|--|
| | <p>*Values are means \pm S.D. of triplicate determinations of NADPH. The concentration of the NADPH was calculated by using a molar absorption coefficient of $6,220 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.</p> |
| <p>對永續議題之貢獻</p> | <p>近年來，隨著分解水產氫與碳捕捉技術的成熟，將生成的氫氣與捕捉的二氧化碳反應轉化成液態化合物，在儲存與運輸上有其優勢。甲酸可由二氧化碳和氫氣組合生成，其合成或分解釋放出氫氣所需的能量比醇類來得更低，因此近年來被譽為比醇類更具綠色化學概念的液體燃料。傳統工業上，甲酸是化石燃料的衍生物，經甲基甲酸鹽的水解生成，但隨著化石燃料的逐漸消耗與環境問題的惡化，通過再生能源途徑如本計畫著重發展以太陽能為驅動力的光輔助觸媒系統在未來幾年將引起越來越多的關注。隨著二氧化碳捕捉之負碳技術需求日益增加，以二氧化碳捕捉為主軸之生物技術也逐漸蓬勃發展，過去時常投入之光合作用二氧化碳固定系統，以及各類原核二氧化碳捕捉途徑已被廣泛研究，而新興之還原性甘胺酸合成途徑，為近年來研究提出具高效率二氧化碳捕捉效益之代謝途徑，投入其途徑關鍵酵素之研究有助於新興負碳生物技術之開發，特別是針對嗜鹼性族群之還原性甘胺酸合成酵素，過去尚未有研究針對其活性特性進行探討，此計畫未來成果對於二氧化碳淨零排放之全球趨勢之技術開發深具潛力。利用環境中的二氧化碳作為基質來源並搭配微生物發酵轉換衍伸性生產甘胺酸，再將其應用於抑制脂質堆積生成之試驗並從試驗過程中了解其抑制脂質堆積之作用機制，以利後續開發具保健效用之機能性材料，也便於後續應用於食品與醫療等領域，達到開啟負碳循環經濟與產業加值之目標。</p> |
| <p>結論與建議</p> | <p>子計畫一： 總結而言，本計畫發展了一種獨特的方法製備出具有表面電漿共振特性之光催化劑，具備多孔性、高表面積與近紅外光吸收能力，確實能有效吸收光能提升二氧化碳轉化速率。此研究概念亦提供新型非均相光觸媒的設計方式，若針對反應物負載不同活性相材料，便可廣泛應用於各種傳統熱催化反應。我們將以此為基礎，持續開發各式有利於二氧化碳轉化為甲酸的觸媒結構。</p> <p>子計畫二： 本子計畫之初步研究投入成果顯示，由生物資訊資料庫分析結果顯示，多數細菌族群皆包含還原性甘胺酸合成途徑之關鍵酵</p> |

| | |
|-----------|--|
| | <p>素，其中，部分嗜鹼性菌群也此途徑，以從中透過 BacDive 菌種生理特性資料庫完成四株目標菌種之挑選，對於用於開發二氧化碳捕捉之負碳技術具有期開發潛力，針對其關鍵酵素之甘胺酸合成活性尚待目標菌株之取得以待確認，目前已初步完成酵素表現載體系統之建構策略，並以 <i>E. coli</i> MG1655 菌株之四個關鍵酵素基因作為設計模板，未來將應用相同規劃策略投入嗜鹼性菌之還原性甘胺酸酵素特性研究。</p> <p>子計畫三：</p> <p>本研究選用正常小鼠肝臟細胞 (FL83B) 與油酸誘導脂肪於正常肝臟細胞堆積之體外模式系統，了解甘胺酸在 1000mg/mL 濃度下不抑制正常小鼠肝臟細胞 (FL83B) 細胞生長之能力，而於甘胺酸濃度 10mg/mL 下有抑制脂肪堆積之效力，同時於油紅染色及圖像量化模式，確認適當劑量下甘胺酸具有抑制脂肪生成之能力，最後利用麩胱甘肽還原酶及過氧化酶之活性檢測發現甘胺酸抑制脂質堆積之機制可能透過結合油酸誘導物而非提升細胞內抗氧化酵素之能力來減少脂質之生成。因此後續可改變油酸誘導物與甘胺酸添加之順序，更一步了解甘胺酸與其脂質誘導物於肝細胞脂質堆積之影響，將更有利於後續保健食品之開發應用。</p> |
| <p>附件</p> | |

備註：

1. 本報告內容以5至10頁為限。
2. 報告繳交時請提供電子檔各1份至總計畫主持人所屬學校之研發處承辦人及本案承辦學校承辦人。

臺灣國立大學系統年輕學者創新性合作計畫補助計畫各校聯絡人

| 學校 | 姓名 | 電話 | E-mail |
|-----|-------|-------------------|--|
| 彰師大 | 鍾權煌先生 | 04-7232105 # 1803 | rainlove@cc.ncue.edu.tw |
| 聯合大 | 陳慧珍小姐 | 037-381406 | huichen@nuu.edu.tw |
| 高雄大 | 莊家琦小姐 | 07-5919106 | ccchi6565@nuk.edu.tw |
| 嘉義大 | 盧青廷小姐 | 05-2717161~4 | yen@mail.ncyu.edu.tw |
| 興大 | 溫晨昀小姐 | 04-2284205-709 | joannewen@nchu.edu.tw |
| 中教大 | 林佩蓉小姐 | 04-2218-3680 | research2@gm.ntcu.edu.tw |
| 暨南大 | 賴品如小姐 | 049-2910960#2832 | prliao@ncnu.edu.tw |
| 雲科大 | 許恩綺小姐 | 05-534-2601#2532 | hsuenchi@yuntech.edu.tw |
| 勤科大 | 顏泳閑小姐 | 04-23924505#2611 | shian@ncut.edu.tw |
| 臺體大 | 王羿婷小姐 | 04-2221-3108#2206 | ytwang@ntus.edu.tw |
| 虎科大 | 陳沛孜小姐 | 05-631-5729 | pz10640@nfu.edu.tw |