

參加 2000 年國際低溫生物學會研討會 及會後參觀考察報告

水產養殖系

趙乃賢

摘 要

對台灣低溫生物學應用於水產的基礎研究與應用研究具有使命感的筆者，以往三十年內每隔數年參加一次國際冷凍生物學會之研討會，今年又得有機會參加 2000 年之大會。為克盡研究者之責，一則將研究成果 2 篇 Stage-dependent Survival of Yolk-reduced Embryos of Zebra Fish, *Danio rerio*, Chilled at 0°C 與 Breaking Through the Bottleneck of Cryopreservation of Ova and Embryos in Aquatic Species: A Potential Area for Research Collaboration 提向大會報告，二則與這方面之國際先進後學互動，聽取精闢演講，或就專精新知提出問題，以供後續研究參考。唯冷凍生物學涉及之面甚廣，篇幅有限，筆力不逮一一介紹之處甚多。

值此通訊進步之年代，上網查詢特殊研究單位或安排訪問考察均極具快速正確的特性。此次即因而得以拜訪保存近兩千種藻類且兼顧研究與提供藻種雙重功能的 Dr. Jerry Brand 實驗室以及在冷熱傳導基礎研究與應用方面領先群倫的 Dr. Ken Diller 實驗室，對筆者今後的研究啟示作用甚大。

一、參加會議經過

近來低溫生物學應用於水產研究方面比以往更受重視。其優點除了主要能及時在其傳統繁殖需要時提供適時的種原，另外也具有保存生物多樣性、預防因天然突變喪失物種、穩定供應配子以利企業化生產或各種相關研究等多項應用的潛力，因此積極研發此項學門自有其意義。筆者在本所東港分所服務時，已開發十餘種魚類之精液保存，轉往養殖系服務時，在探討貝類精液保存有成之餘，也和台大農機系教授合作開創貝類胚體及幼苗冷凍保存之模式流程。其中多項為世界首創或高紀錄維持者，

如烏魚、石斑魚精液冷凍保存、九孔精液冷凍保存、文蛤與九孔胚體冷凍保存。距上次出席國際冷凍生物學會已有 3 年，近年來筆者不僅在魚胚保存相關試驗有新的成效與策略，同時希望藉不同研究學門的整合，及早突破魚胚冷凍保存之瓶頸，深覺以廿多年會員的身份應該多加出力，因此決定參加 2000 年在美國哈佛大學、麻省理工學院所在地之波士頓召開的國際冷凍生物學會之研討會。

該研討會自 7 月 29 日至 8 月 1 日舉行 4 天，7 月 28 日筆者自台北飛抵美國西海岸舊金山，通關後原以為經 2 小時等待，即可轉機啟程趕往東岸波士頓，結果是幾次宣布延遲登機時

刻。即使後來坐上機艙，等了近 2 小時還不見起飛，最後仍因飛機預定途經的芝加哥上空有大雷陣雨而宣告停飛，200 多人全部下機，自行設法重訂機位，尋覓宿處。一時櫃台前人滿為患，公共電話機前五條長龍，個人行動電話全啟動，央求訂位聲此起彼落，同時段又見其他被迫停飛班機的旅客加入，頓時機場陷入另一場混亂當中。總之，筆者行程因而整整晚了 26 小時，翌日深夜抵達設備有點老舊的波士頓國際機場，行李提領轉台故障 8、9 次，結果又慢了 2 個多小時才得脫困，幸蒙友人就讀麻州理工學院(MIT) 的女兒來接機，但是筆者不僅仍覺日夜顛倒，而且疲憊至極，是從來沒有過的痛苦經歷。對 7 小時後就要開始密集會程的人，無疑是一項考驗與損失，因此參加重要國際會議安排提早 1 天抵達以為緩衝，確有其道理。

7 月 30 日清晨 7 點 30 分開始此次 CRYOBIOLOGY 2000 之會程，會場在麻州理工學院之 Kresge Auditorium，該校有專門小組每年承辦近 30 場各不同學門之國際會議，經驗老到，安排富有創意。譬如會期每日提供早餐，讓與會者有更多時間交談，或提早到場先看廠商與出版商的參展商品，使得參展者受到鼓舞，與會者也不至於在每日主題演講者開始講演時才紛紛姍姍來遲。



2000 年國際低溫生物學會研討會會場設在波士頓麻省理工學院之 Kresge Auditorium

此次為該學會第 37 屆研討會，主題仍為低溫生物學與其在醫學及農學最新的進展。大會邀請之特別演講者中，共有 3 位演講的內容與筆者的研究較為有關，特摘要如下：

(一) Dr. T. J. Anchodoquy : Stabilization of DNA-based Therapeutics During Freezing Drying

目前尚未實現的基因治療理應有克服疾病的甚大潛能，其有關之主要挑戰是如何依有關之時間尺度去穩定合成之媒介物。以往的研究指出水性配方可能由於易形成凝集而降低基因遞送的能力，反之，凍結或凍乾的配方可在較長時間內持續保持穩定。他討論了穩定 DNA 為基礎的治療物的特異性以及目前的策略和以往論及之蛋白質和脂質有所不同之處。

(二) Dr. J. J. de Pablo : Fundamental Molecular Level Studies of Trehalose and Sucrose in Concentrated Solution and Glasses

新開發之分子模擬技術被用來探討 trehalose 和 sucrose 在濃縮的水液狀及玻璃狀之溫度物理特性。模擬之預測結果藉由實測玻璃轉態溫度、擴散、黏稠度、導電度和溶液之熱度加以驗證無誤。至於由分子模擬仔細觀察的結果，則用來逐步形成合成物以提供長時間儲存酵素和細菌等。

(三) Dr. S. Nail : Disaccharides as Protectants in Lyophilized Pharmaceutical Protein Formulation

如何預防因冷凍和冷凍乾燥導致生物活性低降，是在藥學界醫療用蛋白質開發過程中的一大挑戰。雙醣類已知是對抗降低生物活性極為重要的化合物，可在冷凍乾燥時急速地減弱活性及冷凍乾燥固體物的保存期間緩慢地降低生物活性二方面發生抑制作用。他在演講中回顧了使用雙醣類為抗凍保護劑之科學研究現況。這包含了化合物具有保護性能的機制、冷凍乾燥蛋白質配方因物理化學穩定性產生非定形系統之黏稠彈性特質所扮演的角色，以及目前雙醣類在各種配方中成為必需添加劑的研發現況。

其他 200 多位與會者所帶來的 100 多篇論文，共分為 11 大組：生物保存中醣類扮演的角色、冷凍乾燥與相關技術、植物生物技術與低溫適應、低溫下之分子調適、血液相關產品之冷凍保存、配子與胚胎/胚體之冷凍生物學 I、II 和 III、生物冰晶形成與其應用、冷凍手術之進展、組織與器官之保存。筆者最有興趣的為醣類在生物保存中所扮演的角色，這方面愈來愈被揭開闡明，使用的種類愈多，複合應用的功能明顯加強；另一為配子與胚胎/胚體之冷凍生物學，其機制逐步推衍，是一具有無限潛力

的領域，我們實驗小組的 2 篇研究報告 Stage-dependent Survival of Yolk-reduced Embryos of Zebra Fish, *Danio rerio*, Chilled at 0°C 與 Breaking Through the Bottleneck of Cryopreservation of Ova and Embryos in Aquatic Species: A Potential Area for Research Collaboration 也都屬此一範圍，正是互相切磋的好機會。較為近似的報告有海星卵母細胞的冷凍保存，蟾蜍卵母細胞作為受體時 Aquaporin 3 冷凍保護劑的穿透性表現。

另外，儀器展示方面雖只十餘家，但日新月異的儀器實在可觀。若為水產研究用，有部分必須在硬體、軟體多方面加以調整方能竟其配合之功，而且價格昂貴，不如一試國內科技整合以自行研發改良型高功能的合宜儀器。

二、與會心得

(一) 出國之前，多年共同合作研究的林達德教授獲知大會請其邀請國內同行研究者商量 3 年後由台灣主辦 Cryobiology 2003 的可能性。此次雖只筆者 1 人由台灣前往與會，但不僅備妥有用資料也有心理準備去爭取。可惜日本代表為亞洲爭取主辦並擬交由台灣主辦的好意被中國以人海戰術與心理喊話取代了。他們有十餘人出席，在美國的留學生也來了不少位，人多聲勢大。第 1 天與會碰到的中國代表就自行一一向握手互道早安的人邀請 2003 年去中國與會，此時大會理監事尚未開會作最後決定呢！此事得失也許不在一時，但仍引以為憾。

(二) 國際會議在固定的名校由承辦小組利用已有的硬體設備作經常性的舉辦，不只輪到主辦的教授可以輕鬆與事，過程順利，效果卓著，而且為校方與學會爭取到不少經費。這是此次在美國麻州理工學院與會時，因許慧文助理臨行前一天意外不能同行，為其交涉多項事宜時意外獲知的心得。

(三) 國際冷凍生物學會歷年皆為學生辦理 Crystal Award 比賽，頒獎給口頭發表與壁報發表最佳的學生，另外也提供少數旅費給提交最佳論文的學生與會。因此學會不斷有新生代參予，是頗為正面的鼓勵策略，值得更多國內外之學會仿效。

三、考察參觀活動

8 月 1 日會程最後一天歡送會後，已是晚間九時，只能在麻州理工學院校園略為逛逛，生物學大樓尚有些許實驗室燈火通明，看得出一樓大廳牆上的設計採動植物共通的 DNA 巨大造型，極具特色。大眾媒體大樓較藝術化，且有本年度 Best in Boston 之設計展。工學大樓及牌樓的外觀，整體拍照起來就是校名 MIT 的字型，造型者用心甚為可取。

8 月 2 日利用上午空檔前往哈佛大學校園作重點參觀，在綠意盎然的哈佛紀念公園內看到當年捐贈建校的哈佛先生銅像，唯正在整修，不得窺其全貌。哈佛燕京圖書館久聞其名，果然外觀聳然，藏書極具質量之勝。哈佛自然歷史博物館暨考古學和人類學博物館則收藏甚豐，將各地人種遷移脈絡及典型用品展示陳列得簡潔明瞭，突顯特色。另外觀賞了同一建築物內之 Peabody Museum，此為 Mr. Leopold Blaschka 及其子 Mr. Rudolf Blaschka 二代精心研究開花植物的細緻結構，供作教學用途之餘再結合玻璃工藝設計，幸得 Dr. Charles E. Ware 家族贊助，終能將 3 千多種植物特色，以永久性科學展示為目的，呈獻給大眾，此類玻璃品獨一無二的珍藏蒐集，令人嘆為觀止的不僅是卷鬚、子房、根莖的鉅細靡遺，而且還有玻璃染色漸層的唯妙唯肖。先人的創見、耐心、毅力和大學啟發後代學子的遠見、用心、魄力，均由小處細節可以一覽無遺，短短 1、2 小時的參觀卻是永久的心靈震撼。筆者再次深感行千里路勝讀萬卷書，古諺的意涵果然不假。



波士頓人文薈萃，我因早期同學藉電子郵件的方便性代為聯絡，在緊湊會程中偶然得知，有 3 位大學同學、4 位高中同學均在此定居，且在各不同領域工作二、三十年，貢獻良多。他們如果都在台灣生根服務，力量一定不小。台灣理應持續創造更好的環境讓學人回歸，不宜讓他們覺得倘若除去親人連繫之外，返台的感覺大部分是異鄉人（outsider），毫無貢獻的著力點。這 7 位同學有些是自 18 歲，有些是自 22 歲以後未曾見面，在我南下的飛機啟程前，放下手邊的工作前來聚敘一小時半，給我的感受頗深頗重，在歡聲笑語中，沈澱良久。

8 月 3 日及 4 日在 Uni. of Texas at Austin 之 Dept. of Botany 和 Biomedical Engineering Program 參觀了預約好的冷凍生物學界有名的 Dr. Jerry Brand 及 Dr. Ken Diller 的實驗室。前者研究並長期保存近 2 千多種藻類，是一項師生傳承，通力合作的佳例，並經常與美國、日本、中國等地研究單位交換藻種。已退休的資深研究員，坐在輪椅上親自告訴我歷史典故，如何於 1952 年在 Brigham Young Uni. 創立，並於 1976 年移往 UT Austin，那份敬業的精神令人敬佩。目前由 4 位研究員、2 位博士班學

生、3 位大學生協助一應工作。新到任的博士後研究員引領我詳細參觀冷凍、冷藏、暗箱保存、繼代培養等不同研究設施與實際保存中的形形色色藻類。至於其培養劑更新，長則 6 個月才換 1 次，短則每 2 週 1 次。50ml 之三角瓶內綠意盎然，卻只是一顆單細胞巨大個體的藻類；性喜室溫與全暗環境的特殊藻類有一套特別的保存箱。藉低溫生物學研究逐步的介入，冷凍保存的藻種大多使用 5% Methanol 為抗凍劑，採二段式降溫，由 -1°C 驟降至 -80°C，保存期長且最不佔空間，也最不浪費人力；可惜以現今的技術而言，不是所有藻類皆可採此法保存。目前保存成功率依不同的藻種，範圍在 0~97% 之間，總平均為 68%（參見下表）。保存的藻種供應中學、大學的教學、研究之用，1950 年代每一培養株須付費 1 美元，1960、1970、1980 年代節節上昇，由 4 增至 10、15 美元；非學術用則需 50 美元。美國境內以 DHL 寄出 3 培養株共重 1 磅之運費為 15 美元計。目前每年供應多達 2000~6000 培養株。這是低溫生物學在水產生物種保存應用頗見成效的一例，得以親往考察，甚為可喜。



保存藻類方法依其特性，各有千秋

UTEX Cryopreservation Summary
August 2000

Class	Total Attempted	Total Successful	Percent Successful
Bacillariophyceae	70	40	57%
Chlorarachniophyceae	2	1	50%
Chloromonadophyceae	3	0	0%
Chlorophyceae	1355	943	70%
Chrysophyceae	21	6	29%
Cryptophyceae	13	1	8%
Cyanophyceae	191	185	97%
Dinophyceae	26	3	12%
Euglenophyceae	71	48	68%
Eustigmatophyceae	5	3	60%
Glaucophyceae	2	0	0%
Phaeophyceae	15	10	67%
Prymnesiophyceae	19	3	16%
Rhodophyceae	115	65	57%
Xanthophyceae	37	21	57%
Overall Total	1945	1329	68%

後者 Dr. Ken Diller 是前 2 屆的國際冷凍生物學會副會長，他正為籌畫成立 UT Austin 之生醫研究所而忙碌，故指派其博士班研究生為我嚮導解說，其研究在冷熱傳導原理的探討與應用的開發皆具有領先的地位，此外，在冷凍顯微鏡的改進與冷凍精細手術輔助器材的研發亦不遺餘力，對外並協助前述藻類冷凍保存與其他醫學上的實際應用。可惜此一方面非筆者之專精，有待推介國內此一方面的學者專家與之連繫互相切磋，或留學生前往研究學習。在上述二實驗室見到不少位中國去的留學生，彼等二、三十年後自然是中國科學界科技發展的一些生力軍，我國赴國外留學的風氣已大不如昔，令人一則以喜，一則以憂。喜的是國內已有能力自行培育好的科學後進，憂的是我們學生身經國際競爭和國際觀洗禮的機會減少，日後如何對外與快速發展的研究單位相抗衡，又

如何對內慎選提昇具世界性影響力科技研究以期在國際舞台上常保一席之地。

四、建議

- (一) 新興科技仰賴新型與專屬功能的儀器甚多，建請國科會精密儀器中心訂妥辦法，以期協助水產界研究人員修改或加裝軟、硬體，發揮醫學儀器用於水產研究之急迫需要，又可培訓開創同類儀器發揮多學門功能的人力。
- (二) 為使台灣雖小而強的國力持續保有競爭力，應就國內現階段的弱點作有遠見的策略制定，培訓有國際觀之新生代研究人員；至於如何培訓，理應由主管單位訂定妥善制度，再由教育與研究機構確切執行。