中華民國第四十八屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組　生物(生命科學)科

040712

利用 RNAi 干擾蛋白表現提升綠藻產生氫效率之研究

學校名稱：國立彰化女子高級中學

作者：	指導老師：
高二　張文馨 高二　連婉蘊	賴杰治

關鍵詞：　產氫代謝、RNAi、綠藻

利用 RNAi 干擾蛋白表現提升綠藻產氫效率之研究

摘要

藻類產生氫氣的目的是爲了彌補不能順利進行光合作用產生 ATP 與 NADPH 所產生之代償反應，負責催化氫氣製造的是產氫酵素（hydrogenase），它必須在無氧的狀態時才有活性。我們利用 RNAi 的方法干擾葉綠體中光系統 II（PS II）的蛋白表現，進而抑制 PS II。當 PS II 之作用受到抑制，隨即面臨因缺少電子而無法順利產生 ATP 與 NADPH，造成呼吸作用速率提高。一段時間之後，水中的溶氧被消耗殆盡，產氫酵素會利用得自 PSI 的電子，將氫離子還原成氫氣，並釋出綠藻體外。

本研究利用 RNAi 干擾小球藻(*Chlorella*)D1 蛋白表現，結果已篩選出 2 株轉殖株，其 PSⅡ光系統中的 D1 蛋白表現呈現較低活性，而且其光合作用活性較野生株小，預期轉殖株應能產生氫氣。

壹、研究動機

一、替代能源時代的來臨

目前人類最爲依賴的能源爲化石燃料，然而石油日漸枯竭逐漸不敷使用。基礎生物課本探討人類與環境的單元即指出：「美國能源部能源情報署（EIA）預測，石油短缺的現象可能最快出現在 2021 年，最慢 2112 年。至於全世界的石油蘊藏量，按照目前各國公布的數據，可使用大約四十年。」而且化石燃料產生的二氧化碳造成全球暖化，危害人類甚鉅，因此尋找乾淨的新能源成爲重要課題。太陽能、生質燃料、氫氣都是不錯的選擇，尤其氫氣燃燒後僅產生水，是低汙染的燃料，有助於人類永續發展。

1939 年，芝加哥大學 Hans Gaffron，在「Nature」中，首先提出 *Scenedesmus obliquus* 的培養過程中，發現有氫氣的產生。

二、藻類的產氫代謝

Melis 在 2001 年提出將 *Chlamydomonas reinhardtii* 在白光下，培養至 3×10^7～6×10^7 cells/ mL，隨後移除含硫的營養鹽。此步驟將抑制 PSII 的作用，使得 *C. reinhardtii* 光合

作用受阻，不再分解水分子產生氧氣、氫離子與電子，面臨因缺少電子無法順利產生 ATP 與 NADPH，只能用呼吸作用透過氧化醣類來獲取綠藻生存所需之能量。約 24 小時後，水中之溶氧消耗殆盡，轉變爲其他產生能量的代謝模式（圖一）。在有光源、缺少硫的無氧環境下，葉綠體基質（choroplast stromal）內的酵素 NADPH oxido-reductase，將 NADPH 氧化成 $NADP^+$，得到電子和氫離子。獲得之電子傳遞給電子傳遞鏈系統，進行光合磷酸化作用以產生 ATP。隨後產氫酵素（hydrogenase）利用所獲得的電子將氫離子還原成氫氣提升產氫效率，但 72 小時後產氫的現象快速下降，且 *C. reinhardtii* 死亡，無法繼續培養。

Hankamer（2007）利用 RNA 干擾技術（RNAi）調控藻類代謝，使其捕捉光線過程更有效率。研究人員關掉製造捕獲光能的蛋白質基因，成功提高衣藻（單細胞光合藻類）的光能捕獲效率；將此基因改造藻類於密封的培養槽中大量培養，在光照下使其釋出氫氣。由於此基改藻類捕獲光能的蛋白質較少，與天然綠藻相較，其顏色較爲輕亮，更有助於光線穿透進入生物反應器深處。這種藻類將存活更久且繁衍更多後代，也因此製造更多的氫氣。

藻類產氫代謝路徑如下：

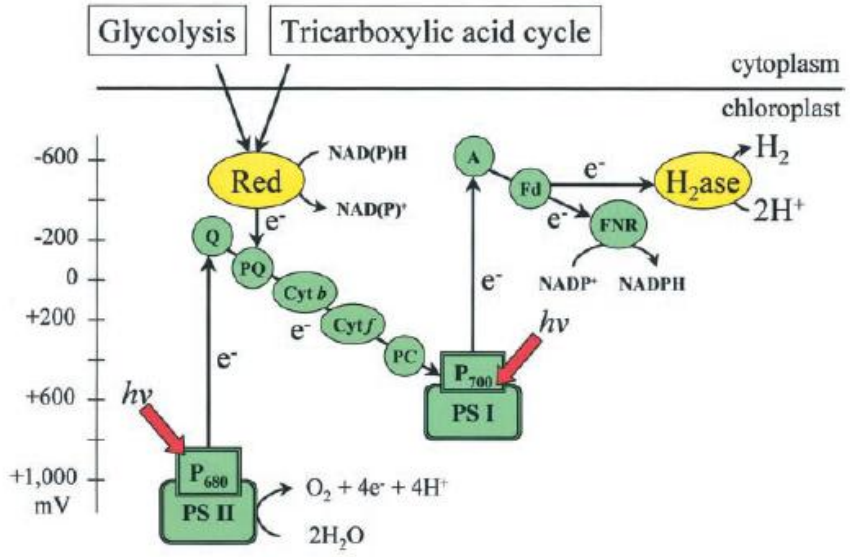


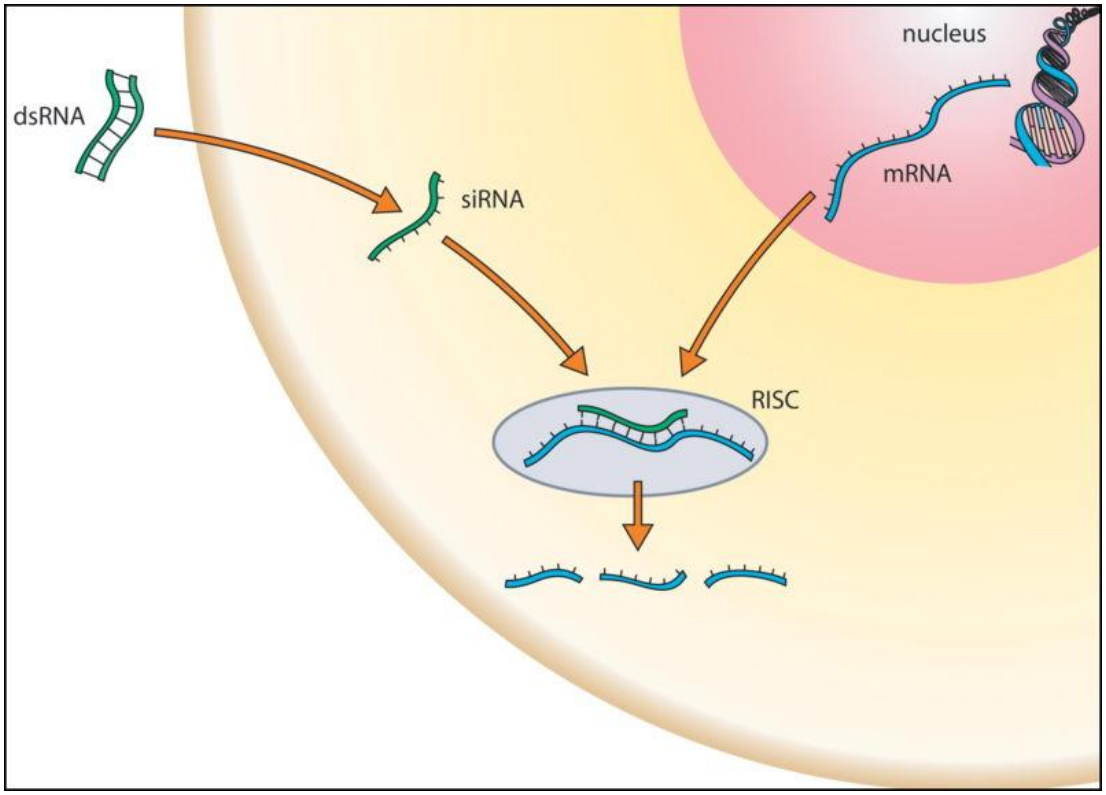
Figure 2. Hydrogenase-related electron transport pathways in green algae. Electrons may originate either at PSII upon photooxidation of water, or at the plastoquinone pool upon oxidation of cellular endogenous substrate (e.g. via glycolysis and the tricarboxylic acid cycle). Electrons in the electron transport chain are transported via PSI to ferredoxin, which serves as the physiological electron donor to the Fe hydrogenase. P_{680}, Reaction center of PSII; P_{700}, reaction center of PSI; Q, primary electron acceptor of PS II; A, primary electron acceptor of PSI; PQ, plastoquinone; Cyt, cytochrome; PC, plastocyanin; Fd, ferredoxin; Red, NAD(P)H oxido-reductase; H_2ase, hydrogenase; FNR, ferredoxin-$NADP^+$ reductase.

圖一：光反應與產氫代謝路徑（節錄 Melis and Happe, 2001）.

藻類產生氫氣的目的，是爲了彌補不能順利進行光合作用產生 ATP 與 NADPH 之代償反應。負責催化氫氣是產氫酵素（hydrogenase），它必須在無氧的狀態時才有活性。因此本研究構想爲利用 RNA interference（RNAi）的方法干擾葉綠體中光系統 II（PS II）的蛋白表現，而抑制 PSII，提高呼吸作用效率。產氫酵素的基因 HydA 在無氧條件誘導下表現，產氫酵素可利用由 PSI 所提供的電子，將氫離子還原氫氣並釋出。

三、RNAi 技術對於調節代謝的應用

RNAi 原理是由雙股 RNA （double-stranded RNA，dsRNA）分子在 mRNA 合成階段，關閉對應之基因序列表現或使其沈默的過程。dsRNA 可以抑制不同類型細胞目標基因的表達，RNAi 是一種典型的轉錄後基因沈默（post-transcriptional gene silencing，PTGS）。



圖二：RNAi 的作用機制
（http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/6/6c/RNAi.jpg/800px-RNAi.jpg）

1998 年時，Fire 和 Mello 發現將 Unc-22 基因的同義單股 RNA 或反義單股 RNA 微注射至線蟲的胚胎裡，都無法觀察到線蟲因 Unc-22 基因被調控後的表現型

（phenotype）。有趣的是，當他們將這兩段序列互補的單股 RNA 黏合成爲雙股 RNA 時，再將這段雙股 RNA 注射至胚胎，竟然可以專一地干擾 Unc-22 的基因表現。他們首度將這個意外發現的“基因沈默”現象稱之爲 RNAi（RNA interference）（Fire, 1998）。

在起始階段，雙股 RNA 分子進入細胞後，被稱爲 Dicer 的核酸酶切割爲 21～23 個核苷酸長的小分子干擾 RNA 片段(small interfering RNA, siRNA）。Dicer 屬於 RNAase Ⅲ家族，能夠識別特異雙股 RNA，產生的小片段 RNA 之 3'端都有 2 個突出鹼基。然後雙股 siRNA 與 RNAase 複合物結合形成 RNA 誘導沈默複合體（RNA-induced silencing complex, RISC）隨即進入 RNA 干擾效應階段。干擾效應階段即 siRNAs 打開雙股而激活 RISC，激活的 RISC 透過鹼基配對與對應的 mRNA 結合，並在距離 siRNA 的 3'端 12 個鹼基位置切割 mRNA。同時，siRNA 可作爲引子並以 mRNA 爲模板合成新的 dsRNA。這樣又可進入上述循環，繼續對目的 mRNA 進行切割，從而使目標基因沈默，產生 RNAi 作用。

四、產氫機制

首先是綠藻利用光合作用中所獲取陽光的能量進行光反應，光反應發生在葉綠體類囊膜上，吸光天線將能量傳遞到 PSⅡ反應中心後，反應中心的 P_{680} 會被激發成 P_{680}*而且失去一個電子，爲了補充這個電子，PSⅡ複合物會與釋放氧氣有關的蛋白質一起作用，將水分子氧化放出氧氣與氫離子（此乃光水解作用，photohydrolysis），而電子則由 PSⅡ上的電子接受者 Pheophytin 所接收，很快的 P_{680}*回到基態，電子又很快的傳給同在 PSⅡ反應中心上的電子攜帶者 Q （quinones）。在 PSⅡ上的電子攜帶者有兩個，分別稱爲 Q_A 與 Q_B，電子的傳遞是先將一對電子傳到 Q_AQ_B 上，再從基質得到兩個氫離子，形成 $Q_AQ_BH_2$，再一起將兩個電子傳給 cyt b_6-f。而在 Q 循環中整個 cyt b_6-f 複合物包括了 2 個 b type 細胞色素、1 個 c type 細胞色素和 1 個 FeS_R 與 2 個 Q。由 PSⅡ來的第一個 QH_2 分子會在近類囊體腔處氧化，將 2 個電子傳給 FeSR 和 b type 細胞色素複合物，並把兩個氫離子釋放到類囊體腔中，傳到 FeSR 的電子會經細胞色素 f 傳給質體藍素 （plastocyanin, PC），質體藍素再還原 PS Ⅰ的反應中心 P_{700}，另一個傳到 b type 細胞色素的電子會再傳給下一個 b type 細胞色素，第二個 b type 細胞色素會還原 1 個 Q，形成 semiquinone 狀態。在第二個 QH_2 分子氧化過程中，第二個 b type 細胞色素會從基質中再取兩個帶正電

氫離子來，把 Q 還原成 QH_2。所以每當 2 個電子傳到 P_{700} 反應中心時就有 4 個氫離子會透過類囊膜。

電子從 P_{700} 反應中心開始，經由一系列的電子傳遞蛋白複合物，如 FeSH、FeSA、鐵氧化還原蛋白 （ferredoxin）、黃素蛋白 （flavoprotein），最後經過 $NADP^+$-鐵氧化還原蛋白還原酵素 （ferredoxin-NADP reductase） 將 $NADP^+$還原成 NADPH。但在無氧的狀態下 NADPH oxido-reductase 將 NADPH 氧化成 $NADP^+$得到電子和氫質子，電子將不再是傳給 ferredoxin-NADP reductase，而 hydrogenase 也因此於無氧抑制下活化。

$2H^+ + 2Fd \rightarrow H_2 + 2Fd$（Florin et al., 2001）。

五、小球藻的產氫代謝調節

我們以小球藻（*Chlorella* sp WT）做爲實驗對象，小球藻爲陳伯中教授於 1996 年，在台中高山電纜發現，爲一種抗乾燥的小球藻，由於原生於台灣較能適應本地氣候。初步擬以 RNAi 方式，干擾小球藻 D1 蛋白的表現。D1 膜蛋白位於 PS II 系統反應中心，假若 D1 蛋白受到干擾便可抑制 PSII。進行 RNAi 後，挑選出轉殖株，期待能在適當的培養條件下，抑制 PSII 之作用促進產氫代謝的進行，以改進 Melis 利用缺硫培養基抑制 PSII 的方法。爲了確定 D1 蛋白受到干擾，我們測量其螢光值，並純化、分析 D1 及相關蛋白質的表現。

貳、研究目的

一、 瞭解產氫代謝路徑的調節及其特性。

二、 了解是否能利用 RNA interference，干擾 D1 蛋白產生，抑制 PSII 之作用。

三、 比較 RNAi 後小球藻生長速率及螢光值與未經 RNAi 品系之差異。

四、 純化 D1 和產氫酵素蛋白，電泳、轉印比較 RNAi 前後的表現差異。

五、 瞭解產氫酵素活性的主要影響因子，以高效率綠藻產氫培養程序應用於低污染替代能源的開發。

參、研究設備及器材

一、 迷你電泳組、供電器

（一）迷你電泳槽 （Hofer SE260 for SDS-PAGES）

（二）鑄膠器

（三）鑄膠三明治組合

1.玻璃板（8X10cm）

2.白色氧化鋁板

3.間隔條（1.5mm）

4.樣本齒模（1.5mm）

二、 Firefox Dry Bath 6100

三、 旋轉搖盪器

四、 電泳轉印槽 （TE22 Tank Transfer Unit）

五、 轉印紙 PVDF（polyvinylidene difluoride）membrane（Hybond P, Amersham）

六、 濾紙 （Whatman No.1 filter paper）

七、 螢光測定儀

八、 離心機

九、 培養箱

十、 4℃和-20℃冰箱

十一、 無菌操作台

十二、 微量分注器 （5ml, 1ml, 200µl, 100µl, 10µl, 1µl）

十三、 光學顯微鏡

十四、 Plasmid Miniprep Purification Kit Ⅱ

十五、 針筒(2.5ml)

十六、 窄口玻璃瓶

十七、 矽膠瓶塞

肆、研究材料及方法

一、材料

(一) 品種:*Chlorella* sp WT (Chen and Lai,1996).

(二) 培養條件

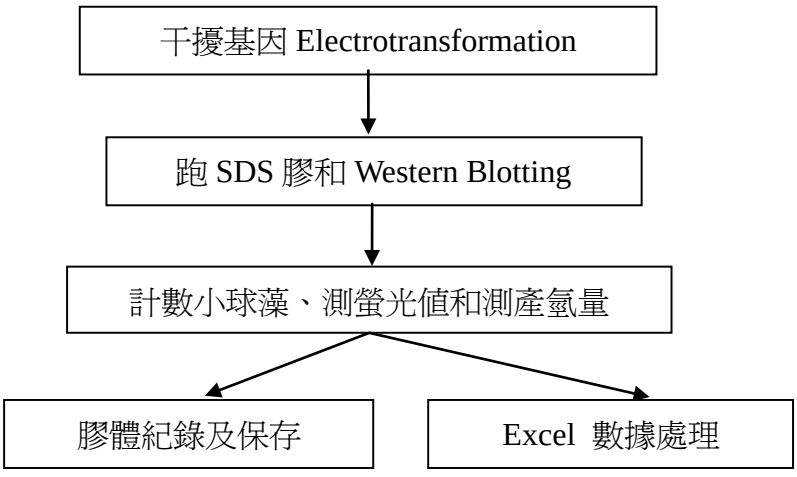
1. 綠藻之啓始濃度4μg Chl ml^{-1} in 100 ml
2. 綠藻培養液(1L)

   0.101g KNO_3, 0.246g MgSO4 ·$_7H_2O$, 0.003g$CaCl_2$ ·$2H_2O$, 0.621g NaH_2PO_4 ·H_2O,0.089g Na_2HPO_4 ·$2H_2O$, 0.062g H_3BO_3, 0.169g $MnSO_4$ ·H_2O, 0.287g $ZnSO_4$ ·$7H_2O$,0.0025g $CuSO_4$ ·$5H_2O$, 0.0129g [NH_4]$6Mo_7O_{24}$ ·$4H_2O$, 0.0139g $FeSO_4$ ·$7H_2O$, 0.0186g EDTA,5g glucose在300ml錐形瓶
3. 溫度 在28±1℃ 在培養箱
4. 光度 40 μE m^{-1} s^{-1} (Chen and Lorenzen 1986)

二、由於產氫酵素的抗體需耗較長時間測試，所以藉由測量 D1 蛋白以間接方式去推測產氫酵素活性。因此，將樣本跑 SDS 膠體後比對 D1 位置來推測產氫酵素是否開始作用和增加。

三、培養過程中，定時測量小球藻的數量及螢光值。若產氫酵素相對增加、小球藻數目增多，且螢光值上升，則可預期產氫的發生。

四、步驟概要：



(一) Electrotransformation:

1. 將樣本離心（1000g/5min）並清洗。
2. 加入 5μg 的 pRNA-CMV 後置入比色管（cuvette）中，並將其放置冰上 5~10 分鐘。
3. 將比色管通過 25mV、200Ω 和小於 1.8kV/cm 的電流。
4. 將之放入添加有 50μg/ml hygromycin 的洋菜培養皿中培養。共有 E3、H3、WT。

(二) SDS-Page:

1. 將「注膠三明治組合」組裝站立。
2. 配置膠體溶液。配製兩片 1.5 mm 膠片所需膠體 （mL）

	分離膠體	焦集膠體
膠體百分比	12.5%	4%
丙烯醯胺液（30%）	8.3	0.66
分離膠體緩衝液	5.0	-
焦集膠體緩衝液	-	1.24
SDS 水溶液 （10%）	0.2	0.05
純水	6.4	2.95
APS 溶液（5%）	0.1	0.1
總體積	20	5

3. 分離膠體溶液混合均勻，用微量吸管吸取溶液，注入鑄膠組合到預定高度，並再加入一層水。以濾紙吸出水層，插入樣本齒模，同法加入焦集膠體溶液。
4. 將通用電泳緩衝液（5×）稀釋成一倍溶液，並加 SDS 成爲 0.1%，倒入迷你電泳槽。
5. 取蛋白質樣本溶液，加入同體積 SDS-PAGE 樣品溶液（2×），以及適量追蹤染料，混合均勻後在 95℃加熱 3 分鐘。
6. 以微量吸管吸取適量樣本至樣本槽。以 300V，20mA 進行電泳，約 1.5hr 後完成電泳。
7. 取出膠體，以 commasie blue 染色。染色後加入脫色液，待膠片背景完全透明，即完成染色脫色。
8. 將膠片掃描成圖檔，並乾燥保存之。

(三) Western Blotting:

1. 將已跑好的 SDS-PAGE 轉移至 PVDF 膜（300mA，2hr）。
2. 將轉移好的 PVDF 膜放入 PBS 緩衝液 5 分鐘。
3. 將 PVDF 膜至入 1°antibody（1μg anti-AOX/ml PBS+1% BSA or 1:500 dilution）4℃放過夜並持續輕微搖晃。
4. 放入 PBS 緩衝液並持續輕微搖晃 1hr。
5. 將膜置入 2° antibody（0.2μg HRP-conjugate/ml PBS+1% BSA or 1:10,000）一小時並持續輕微搖晃。
6. 用 ddH_20 清洗 PVDF 膜三次。
7. 以 DAB 溶液蓋過 PVDF 膜。
8. 直至色帶清楚後用 ddH_20 清洗 PVDF 膜。

(四)蒐集氫氣

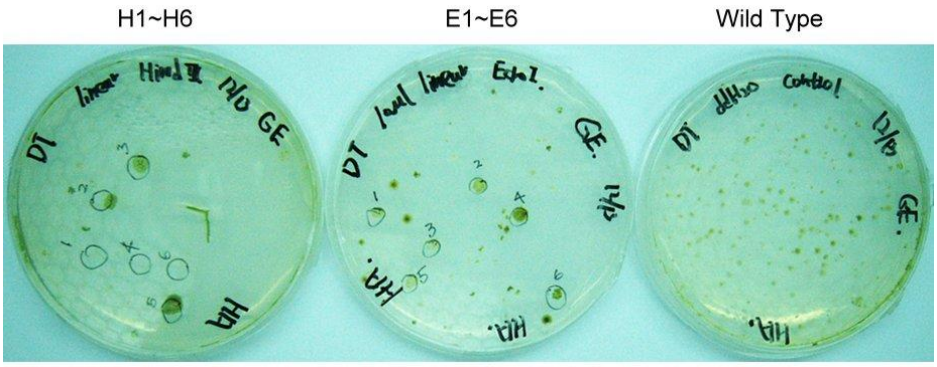
將小球藻置於窄口玻璃瓶，並放入旋轉攪拌棒，於 28℃恆溫培養箱中培養。以針筒(2.5ml)爲氣體蒐集容器，並以矽膠瓶塞密封，觀察其氣體變化量。擬將所蒐集之氣體進行氣相分析，爲所產之氫氣定量。

圖三:自製氣體蒐集裝置

伍、研究結果

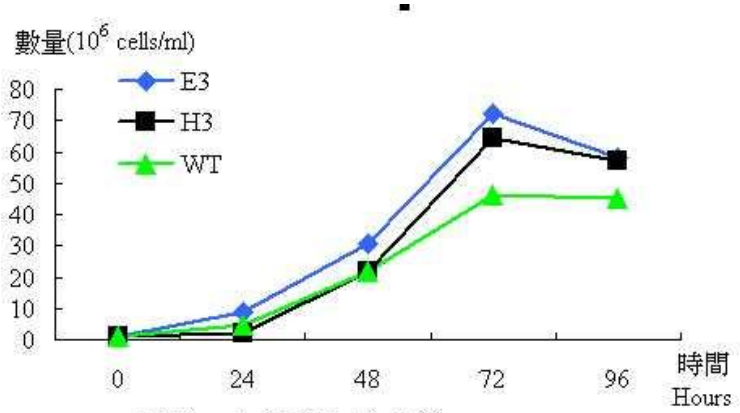
一、電穿孔（Electroporation）轉殖

以 Hygromycin 篩選轉殖株。其中 H1～H6 以 HindⅢ爲限制酶，E1～E6 以 EcoR I 爲限制酶，載入 RNA 片段，期望可以達到干擾 D1 蛋白的產生。經偵測葉綠素螢光值發現轉殖株螢光強度不如正常株（WT），其中 E3、H3 光合作用效率最低，故挑選作爲後續培養的轉殖株。（圖四）

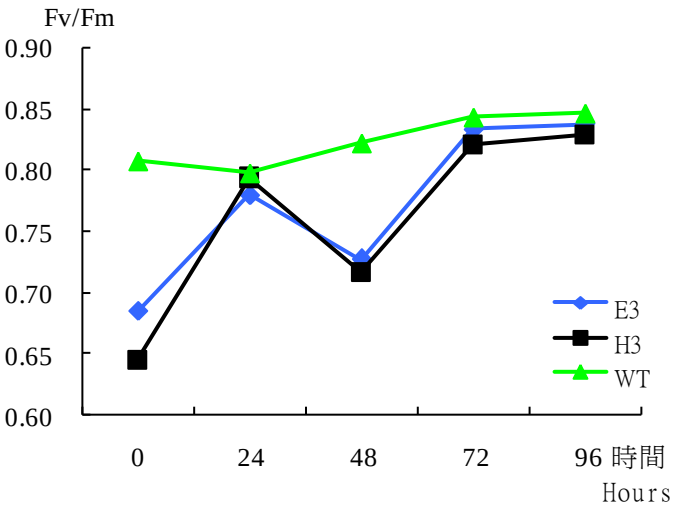


圖四：電穿孔轉殖後在培養皿上培養之藻群

二、藻球數目（圖五）和螢光值（圖六）



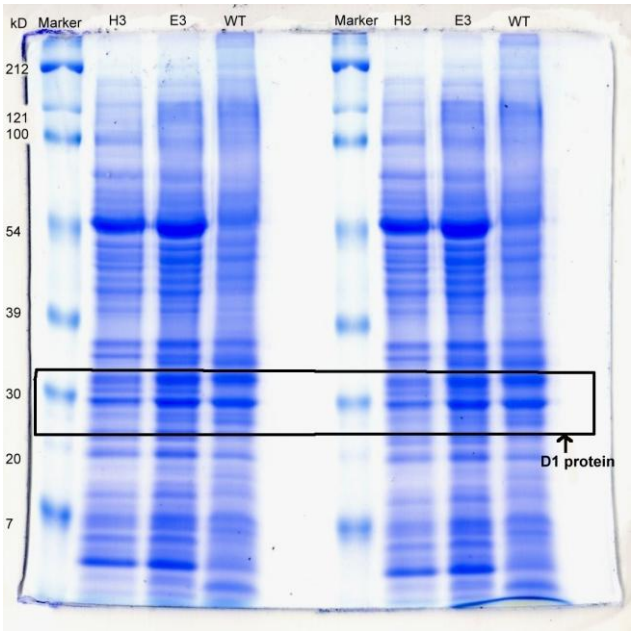
圖五：小球藻生長曲線



圖六：小球藻培養過程葉綠素螢光值變化

WT 爲未經 RNAi 干擾的小球藻，E3、H3 則是經過 RNAi 干擾的小球藻，三者置於含硫環境下培養。結果顯示培養過程中小球藻數目有明顯增加（圖五），一至三日內生長快速，且 E3、H3 的生長速率超過 WT，光合作用速率螢光值則呈現緩慢上升（圖六）。雖然 E3 和 H3 光合作用速率最初較 WT 低，但隨後便接近 WT 而呈穩定狀態，WT 的略高於 E3、H3。

三、SDS PAGE

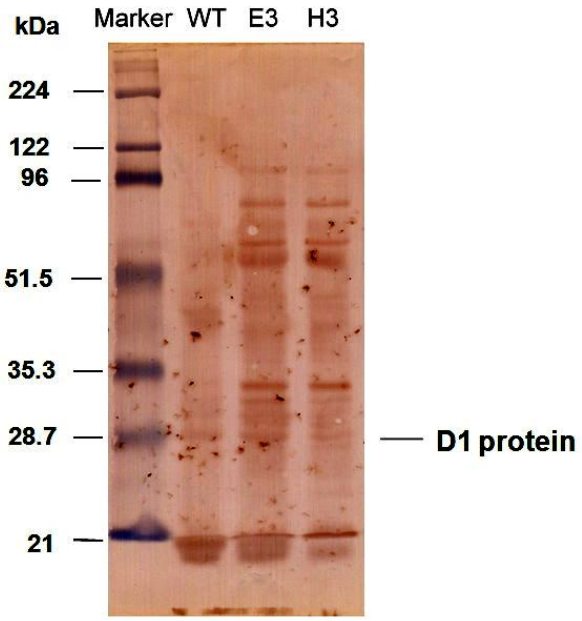


圖七：D1 蛋白的 SDS PAGE 膠體電泳分析結果

圖七爲純化 WT、E3、H3 蛋白後利用 12% SDS-PAGE 電泳的結果。已知 D1 蛋白的分子量約在 28～30kDa，上圖所圈選之範圍爲 D1 可能存在處，接近 Marker 分子量約 30kDa 的部份。爲進一步確認 D1 表現強度，因此以 Western Blotting 比較 D1 蛋白的表現強度差異。

四、Western Blotting

圖八爲 Western Blotting 的結果，利用抗體結合至轉漬之蛋白，測定 D1 蛋白的表現差異，在分子量爲 28.7 kDa 的地方清楚看到 D1 蛋白。由色帶的明顯度可知 H3 的 D1 抑制結果優於 E3，並優於 WT。



圖八：D1 蛋白 Western Blotting 分析結果

陸、討論

一、抑制 D1 蛋白後，小球藻數目明顯增加，且 E3 和 H3 均較 WT 多。推測其 PSII 雖受抑制，但 PSI 仍然運作，故轉殖株生長情形良好，且可能產生較多氫氣。而培養過程中數目明顯增加的結果改善了以往在缺硫培養基下不易維持生長之情形。因此，利用含硫環境培養配合 RNAi 技術的處理方式，能夠持續性的培養綠藻。

二、在抑制電子傳遞進入光系統後，葉綠素所吸收之光能使電子激發出螢光，螢光值高代表所吸收的光能多。將圖五和圖六相做比較後可知 E3 的數量和光能吸收效率均較 H3 高。約 72 小時後，與 WT 有相近的光合作用速率，因此轉殖株仍可有效吸收光能。

三、E3、H3 的螢光值呈現緩慢上升趨勢，但比 WT 略低。因此做了以下兩種推論：一種爲代表 PS Ⅱ 受到抑制，而吸收的光能可能改以產氫代謝方式利用。另一項推論爲上升的螢光值代表 PS Ⅱ 並未被充分抑制。

四、轉殖株 D1 蛋白活性減少，顯示 RNAi 成功抑制其基因表現，使得 PSII 受抑制。參考圖六葉綠素螢光強度的表現，若是 D1 蛋白或 PSII 受抑制，而 PS Ⅰ 仍可運

作，所以光能吸收仍可正常進行，但光反應無法順利完成。推測 PSII 將 H_2O 分解爲 H^+與 O_2，抑制 PSII 將使氧氣產量減少，有利於活化產氫酵素，且 PSI 仍正常運作，增加電子傳給產氫酵素的機會，可能使產氫效率增加。

五、對於圖六之螢光值的變化有兩種推論。若螢光值呈上升趨勢，其吸收之光能增加，可行產氫代謝和以螢光釋放，但其以螢光釋放之比例較高。若螢光值下降，則其將大部分能量轉爲產氫代謝。在 PSⅡ受抑制之情形下，均可能行產氫代謝，只是其與螢光釋放之比例不同。

六、Western Blotting 中條帶顯色偏弱，嘗試以動物蛋白測試，並且參考相關研究，目前認爲可能爲抗體與 D1 蛋白專一性不足，因此呈色反應較差，目前正著手改善抗體問題，替換其他抗體，以獲得更好的解析效果。

七、由圖八所見，E3 的 D1 蛋白活性雖受到抑制卻仍然明顯，推測其可能原因有二：一是小球藻製造的反義 RNA（retro RNA）濃度不足，無法充分抑制 D1 蛋白基因的表現；二是轉殖株的 RNAi 序列和 D1 蛋白的 mRNA 專一性結合不佳，使得抑制效果不夠明顯。

八、從圖八得知 E3 的 D1 抑制效果較 H3 差，但圖五的數目和圖六的螢光值均較 H3 高，推測抑制 D1 並不能完全抑制 PSⅡ。

柒、結論及後續研究

此次實驗中，RNAi 小球藻生長速率較對照組佳，且吸收光能的效率並無明顯差別。在 D1 蛋白表現減少，光合作用速率下降的前提下，能夠維持吸光效能，對於產氫代謝形成有利條件。由 D1 蛋白活性降低而吸光效能可以維持下，應該有利於產氫代謝。且 E3、H3 生長狀況良好，數量甚至超過野生株，顯示轉殖株培養狀況良好，對於進行產氫代謝而言，屬於有利的條件。

由於利用間接檢測 PSII 中斷來推論產氫代謝的發生仍有其盲點，因此目前正著手進行產氫酵素活性的分析，及直接測量氫氣產率的方式，以更直接的方式觀察小球藻是否產氫及其速率高低。如果轉殖株的產氫酵素活性增加，代表氫氣生成速率

也增加，因此收集小球藻產生的氣體，分析其中氫氣含量，便能確認產氫代謝是否有效率的進行。

捌、參考資料及其他

一、 李孟洲 . 以微藻生產氫氣作爲再生能源 . 養研所 博士班
http://ind.ntou.edu.tw/~b0232/hydrogen.htm

二、 基改綠藻釋放氫氣作新能源(publication: Dailyindia.com/ANI October 23, 2007)
http://gmo.agron.ntu.edu.tw/

三、 謝傳曉、韓偉、餘增亮. 模式生物衣藻及其研究進展. 遺傳. 25 卷 3 期（2003/05）p. 350-354

四、 阮慕玲、畢修平. 生物產氫及其應用. 工業溫室氣體減量發展簡訊 22（1996/04）
http://ghg.tgpf.org.tw/newsletter/epaper22-01.htm

五、 台灣地區水庫浮游藻類 http://web2.epa.gov.tw/student/algae/data/a1.html

六、 台灣海洋生態資訊學習網
http://study.nmmba.gov.tw/03_search/search_biology.aspx?bio_rid=1792

七、 基礎生物.南一版.第四章：人類與環境. p. 154-179

八、 Chen PC,Lai CL. (1996) Physiological adaptation during cell dehydration and rewetting of a newly-isolated Chlorella species. Physiol Plant, 96: 453–457

九、 Chen PC, Lorezen H. (1986) Changes in the productivity and nuclear divisions in synchronous Chlorella and circadian rhythm. Plant Cell Physiol, 27: 1423–1427

十、 Melis A, Happe T. (2001) Hydrogen production. Green algae as a source of energy. Plant Physiol, 127: 740-748.

十一、 Mulo P, Tyystjarvi T, Tyystjarvi E, Govindjee, Maenpaa P, Aro EM. (1997)Tgenesis of the D-E loop of photosystem II reaction centre protein D1. Function and assembly of photosystem II. lant Mol Biol, 33: 1059-71.

十二、 Florin L, Tsokoglou A, Happe, T. (2001) A novel type of iron hydrogenase in the green alga Scenedesmusobliquus is linked to the photosynthetic electron transport chain. J Biol Chem, 276: 6125-6132.

十三、 Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. (1998)Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans. Nature, 19;391: 744-5.

【評語】040712

1. 能運用高中課本提及之光合作用機制，思考ＰＳⅡ及ＰＳⅠ受到抑制時對電子傳遞之影響。
2. 能結合基礎知識設計分子生物學實驗方法進行綠藻實驗。
3. RNAi electroporation 實驗的條件尚未完全掌控，致實驗再現性低。
4. 對轉殖技術操作熟練，惜理論並未完全了解，殊爲可惜。