

國立臺南大學 107 年度生物實驗安全委員會會議紀錄

時間：107 年 12 月 18 日(星期二)上午 9 時

地點：誠正大樓 309 會議室

主持人：陳總務長樹屏

出席者：生物科技學系程主任台生、生態暨環境資源學系黃家勤老師、生態暨環境資源學系黃文伯老師、生物科技學系鄧燕妮老師、生物科技學系張翠玲老師、生物科技學系吳慧珍老師、總務處環安組陳憲揚組長

列席者：

壹、主席致詞

謝謝各位委員出席，目前已達開會人數，先進行工作報告後，再請委員們進行案件審查。

貳、工作報告

一、107 年度申請本校生物實驗安全委員會計畫共 8 件，資料如下：

1.計畫編號：GR107001(P.3-P.9)

申請人：生物科技學系張德生老師

計畫名稱：新三萜分子之生產與應用

2.計畫編號：GR107002(P.10-P.16)

申請人：生物科技學系張德生老師

計畫名稱：以酵素轉換法提升皮膚美白原料之活性研究

3.計畫編號：GR107003(P.17-P.22)

申請人：生物科技學系張翠玲老師

計畫名稱：益生菌於蛋白質泛素化與去泛素化作用之研究

4.計畫編號：GR107004(P.23-P.27)

申請人：生物科技學系張翠玲老師

計畫名稱：探討甘草與菊花對肝癌細胞於泛素訊號調控與免疫活化之機轉。

5.計畫編號：GR107005(P.28-P.32)

申請人：生物科技學系吳慧珍老師

計畫名稱：Fatty acid biosynthesis redirected to promote efficient accumulation of medium-chain fatty acid in Trifolium leaf tissues

6.計畫編號：GR107006(P.33-P.38)

申請人：生物科技學系吳慧珍老師

計畫名稱：植物關聯性微生物在土壤固碳所扮演的角色(the role of plant associated microorganisms in carbon sequestration)

7.計畫編號：GR107007(P.39-P.46)

申請人：生物科技學系鄧燕妮老師

計畫名稱：p53 和 NRF2 在 LRWD1 的轉錄調節和抗氧化活性的作用

8.計畫編號：GR107008(P.47-P.52)

申請人：生物科技學系曹哲嘉老師

計畫名稱：解析光自營生物對環境污染物之耐受機制：應用遺傳學工具於模式生物單胞藻之可行性初探

上述8件計畫，已全數審查完畢。

叁、提案討論

國立臺南大學107年度第1次「生物實驗安全委員會議」案表

項次	提案事項	提案單位	頁數
一	有關計畫編號GR107001、GR107002、GR107003、GR107004、GR107005、GR107006、GR107007、GR107008生物實驗安全申請案，是否同意進行？	總務處環安組	2

提案一

案由：有關計畫編號 GR107001、GR107002、GR107003、GR107004、GR107005、GR107006、GR107007、GR107008 生物實驗安全申請案，是否同意進行，提請討論？

說明：

一、上述計畫編號 GR107001、GR107002、GR107003、GR107004、GR107005、GR107006、GR107007、GR107008，已經 2 名審查委員審查，審查意見均為同意進行，詳細審核意見表如附件(P.3-P.52)。

二、上述申請案如經本委員會確定同意進行後，則於申請計畫「基因重組實驗申請同意書」加蓋本校生物實驗安全委員會查覈章。

決議：1.鄧燕妮委員往後申請書，應詳細敘明實驗步驟，以利委員初審，避免審查機制流於形式，日後將針對申請案加強確認相關資訊，如有缺漏將請申請者補充後送審。

2.全數申請案照案通過。

肆、臨時動議

臨時動議（一）

鄧燕妮委員：高溫高壓滅菌釜是否有相關法規規定，應設置於獨立空間，避免因人為疏忽或機器故障，造成壓力過高爆裂之問題，如有法規規定則是否應獨立空間存放。

意見回覆：

依據「鍋爐及壓力容器安全規則」(詳如附件1)，目前生物實驗室所使用之高溫高壓滅菌釜，屬於第一類壓力容器中的小型壓力容器（依據「鍋爐及壓力容器安全規則」第五條第一項第三款），並無規定需獨立空間設置，且該設備裝有過熱停止加熱裝置且異常時會有警示聲，避免危害發生，故高溫高壓滅菌釜設置位置目前仍維持原位。

臨時動議（二）

鄧燕妮委員提出：為提升老師研究深度，建請調查生物科技學系針對 P2(BSL-2)實驗室之需求，提請校方協助設置 P2 (BSL-2) 實驗室。

意見回覆：

經調查生物科技學系教師需求（12/25 上午 9 點截止，詳如附件 2），日後需有 P2(BSL-2)等級實驗室進行研究之教師為 3 人，4 人尚無需求，2 人尚未回覆。

臨時動議（三）

黃文伯委員提出：為避免申請者使用未符合實驗室防護等級之危險類群基因重組相關生物材料，應建立自動檢查表及進行實驗室檢查。

意見回覆：

本組將會參考其他大學研擬相關自動檢查表，提供實驗室針對基因重組材料管理、使用進行自主管理，本組亦會在定期實驗室勘查作業中提醒相關實驗室遵守。

伍、散會（9：50 結束）

- (9) 空管離心 13500 rpm 2 min。
- (10) 將 column 移到 1.5 mL 離心管，加入先前預熱的 TE buffer 200 μ L。
- (11) 靜置 3 min，離心 13500 rpm 1.5 min。
- (12) 將 DNA 保存於-20°C。

2. 質體(Plasmid)萃取

Midi Plus™ ultrapure plasmid extraction system (Viogene, Taiwan)

- (1) column 使用前須先 vortex，後加入 3 mL 98% ethanol 潤濕，滴乾後再加入 5 mL VPN buffer，待完全滴乾後方可使用。
- (2) 將培養完成的 3 瓶 20 mL 菌株培養液以 4000 rpm、4°C 離心 5 min，去除上清液。
- (3) 加入 4 mL VP1 buffer 混合均勻，VP1 buffer 未使用時儲存於 4°C。
- (4) 加入 4 mL VP2 buffer，輕輕地搖晃離心管均勻，靜置 5 min。
- (5) 加入 4 mL VP3 buffer (VP3 buffer 使用前需放置於 4°C 冰箱)，輕輕地搖晃。
- (6) 將步驟五之液體真空過濾，取濾液加入 column。
- (7) 滴乾後，加入 15 mL VPN buffer，去濾液。
- (8) 完全滴乾後，將 column 移至新離心管，管內含有 3.75 mL 異丙醇(Isopropanol)。
- (9) 再加入 5 mL VPE buffer，完全滴乾與管內異丙醇混合均勻。
- (10) 將混合液分裝於 eppendorf，離心 13500 rpm 10 min。
- (11) 輕輕倒乾 eppendorf，(加入 70% ice Ethanol，離心 13500 rpm 3 min，去上清)* 2 次。
- (12) 放置於低於 60°C 的培養箱風乾，以 200 μ L TE buffer 回溶。
- (13) 離心，取 180 μ L 上清液為萃取之 plasmid DNA，保存於-20°C。

3. 聚合酵素連鎖反應(Polymerase chain reaction, PCR)

- (1) 將倒轉錄出的 cDNA 或萃取出之基因體 DNA 透過聚合酶連鎖反應 (Polymerase chain reaction, PCR) 放大所需之基因片段，因此將下述之項目混合均勻於 PCR tube 內。

DNA 0.5 μ L
 10X taq polymerase buffer 10 μ L
 MgCl₂ 2.5 μ L
 10mM dNTP 1 μ L
 Primer(Forward)- 10 μ M 2.5 μ L
 Primer(Reverse)- 10 μ M 2.5 μ L
 Taq polymerase 0.5 μ L
 ddH₂O 33 μ L
 Total 50 μ L

- (2) 震盪並離心後，放入 PCR 機器反應，反應條件以:

Stage 1 一般擴增 94.5°C 反應 3 min。

破菌 94.5°C 反應 10 min。

Stage 2 (30 cycle) 94°C 反應 30 sec。

55°C 反應 30 sec。

72°C 反應 1.5 min。

(1 Kb = 1 min)

Stage 3 72°C 反應 10 min。

4. 膠體電泳(Electrophoresis)

- (1) 100 mL 0.5X TBE buffer 加入 1 g 瓊脂膠(Agarose LE)，置於血清瓶中，鬆蓋以微波爐加熱至完全溶解。
- (2) 待其降溫為手可接受之溫度，加入 1 μ L (1/105) nuclear stain 搖勻，做為 DNA 之染色劑。
- (3) 注入鑄膠模具待其凝固。
- (4) 將膠體置於電泳槽中，加入 0.5X TBE buffer，須淹過整個膠體。
- (5) PCR 反應產物與 6X DNA loading dye (5 : 1) 混合均勻後注入瓊脂膠孔中，以 DNA ladder 做為

Marker。

- (6) 開啟電源供應器，以 100 伏特電壓進行電泳。
- (7) 完成電泳後，取出膠體置於紫外光燈箱(UV box)下檢視並拍照。

5. DNA 膠體純化(Gel extraction)

利用 Gel-MTM Gel extraction system (Viogene, Taiwan)純化膠體中 DNA，實驗步驟依照其所附操作手冊進行，操作方法如下：

- (1) 將電泳後的膠體置於紫外光燈箱下，快速的以美工刀切取含有標的 DNA 亮帶的膠體，置於 1.5 mL eppendorf 內秤重。
- (2) 在 eppendorf 內加入膠體重量 3 倍的 GEX buffer，以石蠟封口膜封好，然後置於 60°C 水浴槽中加熱 10 min，每 1-2 min 搖晃一次。
- (3) 完全溶解後，加入 column 離心 30 sec。
- (4) 去除濾液，加入 500 μ L WF buffer 至 column 中，離心 30 sec。
- (5) 去除濾液，再加入 700 μ L WS buffer 至 column 中，離心 30 sec。
- (6) 去除濾液，離心最大轉速 3 min (13500rpm)。
- (7) 將 column 移至 1.5 mL eppendorf 中，再加入 30 - 50 μ L Elution buffer 在 column 正中間，等待 1 min 後，離心最大轉速 2 min。
- (8) 將 DNA 保存於 -20°C。

6. 基因選殖(Cloning)

- (1) 將欲選殖的 DNA 與載體以實驗所設計的限制酵素切割，以膠體電泳分離，利用 DNA 膠體純化回收 DNA。
 - (2) 黏接反應(Ligation)：利用 T4 DNA ligase，而欲選殖的 DNA 片段與載體的濃度比約為 3:1 (依跑膠亮度調整)，混合 DNA 與載體在室溫下進行黏接反應，反應時間約為 20 - 30 min。
 - (3) 大腸桿菌(E. coli)勝任細胞轉形反應(Transformation)：從 -80°C 取出之 competent cell 回溫至半融，此時將黏接反應的 DNA 與 100 μ L 的勝任細胞混合，震盪 1 sec 後置於冰上 5 min，42°C 熱休克 45 sec，迅速回到冰上，將菌液均勻塗抹在含有適量抗生素的 LB 瓊脂培養基上，放入 37°C 培養箱中，培養 12 - 16 hr。(p.s. pGAP 載體系列 Zeocin 濃度為 25 μ g/mL；pET-Duet 載體系列 Ampicillin 濃度為 100 μ g/mL)
 - (4) 以 tip 挑取菌落，先於 PCR tube 內刮下菌，再輕輕將 tip 點於含有適量抗生素的 LB 瓊脂培養基上，放於 37°C 震盪培養箱內培養 12 - 16 hr。(pGAP plasmid 抗生素為 zeocine 25 μ g/mL；pET-Duet 抗生素為 ampicillin 100 μ g/mL)
 - (5) PCR tube 利用聚合酵素連鎖反應擴增欲選殖的 DNA，以膠體電泳核對 DNA 片段大小。
 - (6) 確認挑到實驗所需要之重組 DNA 的菌落，以 tip 點菌打入含有適量抗生素的液態 LB 培養基中，放入 37°C 培養箱中，培養 12 - 16 hr 後萃取質體 DNA。
- #### 7. 限制酶切割反應(Restriction enzyme digestion)
- (1) 將下述之項目混合均勻於 1.5 mL eppendorf 內。

DNA 30 μ L
3.1 duffer 5 μ L
EcoRI 2.5 μ L
XbaI 2.5 μ L
H₂O 10 μ L
total 50 μ L

- (2) 混勻後置於 37°C 水浴槽，反應 4 hr。
- (3) 以膠體電泳分離，利用 DNA 膠體純化回收 DNA。

8. 質體轉形熱休克實驗(Heatshock)

- (1) 將目的 DNA 的質體(plasmid)溶液取 1 μ L 加入 1.5 mL eppendorf 中。
- (2) 加入 50 μ L 勝任細胞 Escherichia coli BL21 (DE3)溶液，緩和的 pipetting 混合。
- (3) 冰浴 30 min。
- (4) 熱衝擊：將離心管放入預熱好的 42°C 的水浴槽 90 sec。

- (5) 取出後再冰浴 30 min。
- (6) 加入含有 1 mL LB 培養液的 15 mL 離心管，放入 37°C 恆溫振盪培養箱，震盪培養 1 hr。
- (7) 吸取 50 μ L 菌液至 LB 固態培養基，內含有 100 μ g/mL Ampicillin 塗盤直至乾掉。
- (8) 37°C 培養一天。

計畫主持人(申請人)簽名：_____ 107 年 10 月 25 日

生物實驗安全委員會查覈欄 (以上基因重組實驗資料，由生物實驗安全委員會覈實同意並核章後，發還申請人並保留影本。任一項目不合適或不完備，則退還請申請人改善或更正。)

本項基因重組實驗查覈結果：同意進行 不同意進行

附註意見(無者免填)：

國立臺南大學生物實驗安全委員會核章：_____ 年 月 日

國立臺南大學基因重組實驗

切結書

本人_____申請「國立臺南大學生物實驗安全委員會」案件，計畫名稱新三萜分子之生產與應用，遵照「國科會基因重組實驗守則」、「國立臺南大學實驗室廢棄物清除處理要點」、「國立臺南大學毒性化學物質及有害廢棄物管理要點」及「國立臺南大學職業安全衛生工作守則」等相關規範辦理及執行。特立此切結為憑，如有不實，願自負一切法律責任。

此致

國立臺南大學

申請人：_____（親簽章）

中 華 民 國 107 年 10 月 25 日

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表 (續)

案件編號	GR107001	單位	生科系
研究計畫 名稱	新三萜分子之生產與應用		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
	<ol style="list-style-type: none"> 1. 基因重組實驗設計、操作步驟皆符合政府相關規定。 2. 請注意實驗後產生之廢棄物後續處理。 3. 同意進行。 		
審查人簽章	委員核章		審畢日期
			107年11月01日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表 (續2)

案件編號	GR107001	單位	生科系
研究計畫 名稱	新三萜分子之生產與應用		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
審查人簽章	委員核章		審畢日期
			107年 11月 20日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 21331111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

- (9) 空管離心 13500 rpm 2 min。
- (10) 將 column 移到 1.5 mL 離心管，加入先前預熱的 TE buffer 200 μ L。
- (11) 靜置 3 min，離心 13500 rpm 1.5 min。
- (12) 將 DNA 保存於-20°C。

2. 質體(Plasmid)萃取

Midi Plus™ ultrapure plasmid extraction system (Viogene, Taiwan)

- (1) column 使用前須先 vortex，後加入 3 mL 98% ethanol 潤濕，滴乾後再加入 5 mL VPN buffer，待完全滴乾後方可使用。
 - (2) 將培養完成的 3 瓶 20 mL 菌株培養液以 4000 rpm、4°C 離心 5 min，去除上清液。
 - (3) 加入 4 mL VP1 buffer 混合均勻，VP1 buffer 未使用時儲存於 4°C。
 - (4) 加入 4 mL VP2 buffer，輕輕地搖晃離心管均勻，靜置 5 min。
 - (5) 加入 4 mL VP3 buffer (VP3 buffer 使用前需放置於 4°C 冰箱)，輕輕地搖晃。
 - (6) 將步驟五之液體真空過濾，取濾液加入 column。
 - (7) 滴乾後，加入 15 mL VPN buffer，去濾液。
 - (8) 完全滴乾後，將 column 移至新離心管，管內含有 3.75 mL 異丙醇(Isopropanol)。
 - (9) 再加入 5 mL VPE buffer，完全滴乾與管內異丙醇混合均勻。
 - (10) 將混合液分裝於 eppendorf，離心 13500 rpm 10 min。
 - (11) 輕輕倒乾 eppendorf，(加入 70% ice Ethanol，離心 13500 rpm 3 min，去上清)* 2 次。
 - (12) 放置於低於 60°C 的培養箱風乾，以 200 μ L TE buffer 回溶。
 - (13) 離心，取 180 μ L 上清液為萃取之 plasmid DNA，保存於-20°C。
- ## 3. 聚合酵素連鎖反應(Polymerase chain reaction, PCR)
- (1) 將倒轉錄出的 cDNA 或萃取出之基因體 DNA 透過聚合酶連鎖反應 (Polymerase chain reaction, PCR) 放大所需之基因片段，因此將下述之項目混合均勻於 PCR tube 內。

DNA 0.5 μ L
 10X taq polymerase buffer 10 μ L
 MgCl₂ 2.5 μ L
 10mM dNTP 1 μ L
 Primer(Forward)- 10 μ M 2.5 μ L
 Primer(Reverse)- 10 μ M 2.5 μ L
 Taq polymerase 0.5 μ L
 ddH₂O 33 μ L
 Total 50 μ L

- (2) 震盪並離心後，放入 PCR 機器反應，反應條件以:

Stage 1 一般擴增 94.5°C 反應 3 min。
 破菌 94.5°C 反應 10 min。

Stage 2 (30 cycle) 94°C 反應 30 sec。

55°C 反應 30 sec。

72°C 反應 1.5 min。

(1 Kb = 1 min)

Stage 3 72°C 反應 10 min。

4. 膠體電泳(Electrophoresis)

- (1) 100 mL 0.5X TBE buffer 加入 1 g 瓊脂膠(Agarose LE)，置於血清瓶中，鬆蓋以微波爐加熱至完全溶解。
- (2) 待其降溫為手可接受之溫度，加入 1 μ L (1/105) nuclear stain 搖勻，做為 DNA 之染色劑。
- (3) 注入鑄膠模具待其凝固。
- (4) 將膠體置於電泳槽中，加入 0.5X TBE buffer，須淹過整個膠體。
- (5) PCR 反應產物與 6X DNA loading dye (5 : 1) 混合均勻後注入瓊脂膠孔中，以 DNA ladder 做為

Marker。

- (6) 開啟電源供應器，以 100 伏特電壓進行電泳。
- (7) 完成電泳後，取出膠體置於紫外光燈箱(UV box)下檢視並拍照。

5. DNA 膠體純化(Gel extraction)

利用 Gel-MTM Gel extraction system (Viogene, Taiwan)純化膠體中 DNA，實驗步驟依照其所附操作手冊進行，操作方法如下：

- (1) 將電泳後的膠體置於紫外光燈箱下，快速的以美工刀切取含有標的 DNA 亮帶的膠體，置於 1.5 mL eppendorf 內秤重。
- (2) 在 eppendorf 內加入膠體重量 3 倍的 GEX buffer，以石蠟封口膜封好，然後置於 60°C 水浴槽中加熱 10 min，每 1-2 min 搖晃一次。
- (3) 完全溶解後，加入 column 離心 30 sec。
- (4) 去除濾液，加入 500 μ L WF buffer 至 column 中，離心 30 sec。
- (5) 去除濾液，再加入 700 μ L WS buffer 至 column 中，離心 30 sec。
- (6) 去除濾液，離心最大轉速 3 min (13500rpm)。
- (7) 將 column 移至 1.5 mL eppendorf 中，再加入 30 - 50 μ L Elution buffer 在 column 正中間，等待 1 min 後，離心最大轉速 2 min。
- (8) 將 DNA 保存於 -20°C。

6. 基因選殖(Cloning)

- (1) 將欲選殖的 DNA 與載體以實驗所設計的限制酵素切割，以膠體電泳分離，利用 DNA 膠體純化回收 DNA。
- (2) 黏接反應(Ligation)：利用 T4 DNA ligase，而欲選殖的 DNA 片段與載體的濃度比約為 3:1 (依跑膠亮度調整)，混合 DNA 與載體在室溫下進行黏接反應，反應時間約為 20 - 30 min。
- (3) 大腸桿菌(E. coli)勝任細胞轉形反應(Transformation)：從 -80°C 取出之 competent cell 回溫至半融，此時將黏接反應的 DNA 與 100 μ L 的勝任細胞混合，震盪 1 sec 後置於冰上 5 min，42°C 熱休克 45 sec，迅速回到冰上，將菌液均勻塗抹在含有適量抗生素的 LB 瓊脂培養基上，放入 37°C 培養箱中，培養 12 - 16 hr。(p.s. pGAP 載體系列 Zeocin 濃度為 25 μ g/mL；pET-Duet 載體系列 Ampicillin 濃度為 100 μ g/mL)
- (4) 以 tip 挑取菌落，先於 PCR tube 內刮下菌，再輕輕將 tip 點於含有適量抗生素的 LB 瓊脂培養基上，放於 37°C 震盪培養箱內培養 12 - 16 hr。(pGAP plasmid 抗生素為 zeocine 25 μ g/mL；pET-Duet 抗生素為 ampicillin 100 μ g/mL)
- (5) PCR tube 利用聚合酵素連鎖反應擴增欲選殖的 DNA，以膠體電泳核對 DNA 片段大小。
- (6) 確認挑到實驗所需要之重組 DNA 的菌落，以 tip 點菌打入含有適量抗生素的液態 LB 培養基中，放入 37°C 培養箱中，培養 12 - 16 hr 後萃取質體 DNA。

7. 限制酶切割反應(Restriction enzyme digestion)

- (1) 將下述之項目混合均勻於 1.5 mL eppendorf 內。

DNA 30 μ L
3.1 duffer 5 μ L
EcoRI 2.5 μ L
XbaI 2.5 μ L
H₂O 10 μ L
total 50 μ L

- (2) 混勻後置於 37°C 水浴槽，反應 4 hr。
- (3) 以膠體電泳分離，利用 DNA 膠體純化回收 DNA。

8. 質體轉形熱休克實驗(Heatshock)

- (1) 將目的 DNA 的質體(plasmid)溶液取 1 μ L 加入 1.5 mL eppendorf 中。
- (2) 加入 50 μ L 勝任細胞 Escherichia coli BL21 (DE3)溶液，緩和的 pipetting 混合。
- (3) 冰浴 30 min。
- (4) 熱衝擊：將離心管放入預熱好的 42°C 的水浴槽 90 sec。

- (5) 取出後再冰浴 30 min。
- (6) 加入含有 1 mL LB 培養液的 15 mL 離心管，放入 37°C 恆溫振盪培養箱，震盪培養 1 hr。
- (7) 吸取 50 μ L 菌液至 LB 固態培養基，內含有 100 μ g/mL Ampicillin 塗盤直至乾掉。
- (8) 37°C 培養一天。

計畫主持人(申請人)簽名：_____ 107 年 11 月 13 日

生物實驗安全委員會查覈欄 (以上基因重組實驗資料，由生物實驗安全委員會覈實同意並核章後，發還申請人並保留影本。任一項目不合適或不完備，則退還請申請人改善或更正。)

本項基因重組實驗查覈結果：同意進行 不同意進行

附註意見(無者免填)：

國立臺南大學生物實驗安全委員會核章：_____ 年 月 日

國立臺南大學基因重組實驗

切結書

本人_____申請「國立臺南大學生物實驗安全委員會」案件，計畫名稱 以酵素轉換法提升皮膚美白原料之活性研究，遵照「國科會基因重組實驗守則」、「國立臺南大學實驗室廢棄物清除處理要點」、「國立臺南大學毒性化學物質及有害廢棄物管理要點」及「國立臺南大學職業安全衛生工作守則」等相關規範辦理及執行。特立此切結為憑，如有不實，願自負一切法律責任。

此致

國立臺南大學

申請人：_____ (親簽章)

中 華 民 國 107 年 11 月 13 日

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表

案件編號	GR107002	單位	生科系
研究計畫名稱	以酵素轉換法提升皮膚美白原料之活性研究		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
	<ol style="list-style-type: none"> 1. 基因重組實驗設計、操作步驟皆符合政府相關規定。 2. 申請案-重組基因來源為第一級危險群，本校設備亦符合實驗所需。 3. 請申請者注意實驗後相關廢棄物之後續處理。 4. 同意進行 		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	107年12月01日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表

案件編號	GR107002	單位	生科系
研究計畫名稱	以酵素轉換法提升皮膚美白原料之活性研究		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
	無意見		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	2018年12月07日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學基因重組實驗申請同意書

附表一

凡進行基因重組實驗須由計畫主持人或實驗負責人填寫本表，送本校生物實驗安全委員會覈實同意並簽名後，發還申請人並保留影本。向有關機構申請研究計畫經費時，將影本隨附於計畫書備查。研究計畫核准後，所進行之基因重組實驗須與填寫內容相符，如實驗變更至更高安全等級，須再另填寫「申請同意書」報請生物實驗安全委員會同意。

研究計畫名稱：_益菌於蛋白質泛素化與去泛素化作用之研究_

計畫主持人：_____ 職稱：_教授_ 電話及傳真：_____

執行機構、系所：_國立台南大學生物科技學系_

1、實驗內容： 是否進行基因重組之實驗？ -----是

是否進行微生物培養的實驗？ -----是

是否進行基因轉殖之動物實驗？ -----是

是否進行基因轉殖之植物實驗？ -----是

是否為自交植物？ -----是

2、重組基因來源、宿主之安全等級及名稱（參考國科會基因重組實驗守則）

a.重組基因來源名稱：_____

第一級危險群，第二級危險群，第三級危險群，第四級危險群，動物，植物

b.進行重組基因之微生物或病毒宿主名稱：_E. coli_

第一級危險群，第二級危險群，第三級危險群，第四級危險群

c.進行重組基因之細胞、植物或動物宿主名稱：_____

3、基因轉殖實驗設備及轉殖方法

a.具備之基因轉殖之動物實驗設備：SPF 設備； IVC 設備；

其他〔名稱〕_____

b.具備之基因轉殖之植物實驗設備：生長箱； 溫室； 農場；

其他〔名稱〕_____

c.基因轉殖方法：virus； microinjection； liposome； gene gun； Agrobacterium

其他〔名稱〕_____

4、進行本研究所需之安全等級：P1 P2 P3 P4

5、進行本研究之實驗室 _____ 其生物安全等級：P1

如進行實驗安全等級 P2 以上之實驗研究，請提供共同計劃基因重組實驗申請同意書，以供查證。

進行本研究之實驗室 _____ 其生物安全等級：P2 P2+ P3 P

6、與基因重組有關的實驗目的及詳細實驗步驟

實驗目的及詳細實驗步驟：

一、實驗目的：泛素化降解途徑廣泛存在每個細胞中。想了解多酚類化合物對去泛素化酵素作用機轉，因此製造 mRFP-Ub 或 Ub^{G76V}-YFP 重組蛋白，以利於研究。

二、實驗詳細步驟：將一段含有泛素的DNA序列，利用設計出的引子 synthetic forward and reverse oligonucleotides fp 5'-GCTAGCACCACCATGGCCT-3' and rp5'-TAGATCCGGTGGATCCCGG-3'，以聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction; PCR) 增幅片段。PCR機器(Thermo, Massachusetts)設定94°C→52.5°C→72°C循環後，藉由Clean and Gel Extraction Kit (BioKit, Taiwan) 將PCR產物中的雜質去除。接著PCR產物與T&A cloning vector (Yeastern, Taipei, Taiwan)接合並以heat shock方式送入勝任細胞中(DH5a)。接著送Gemomics 公司定序。

接著將轉型成功的 *E. coli* 以萃取質體，再以限制酶切，與也用相同限制酶切的載體 p3XFLAG-CMV-14 進行接合並以 heat shock 方式送入勝任細胞中(DH5a)。或將轉型成功的 *E. coli* 萃取質體，再送入 cell 中。

將 HepG2 細胞 (0.12×10⁶ 或 1×10⁶ 個細胞) 培養在 24 或 6 孔微量滴定板中，每孔 500 或 1000μL 培養基中生長 24 小時。使用 PolyJet 用 1μg Ub^{G76V}-YFP plasmid DNA 轉染細胞。轉染後 18 小時，將轉染細胞的培養基更換為 0.5mg / mL G418 二硫酸鹽。

計畫主持人(申請人)簽名：

107年 11 月 21 日

生物實驗安全委員會查覈欄 (以上基因重組實驗資料，由生物實驗安全委員會覈實同意並核章後，發還申請人並保留影本。任一項目不合適或不完備，則退還請申請人改善或更正。)

本項基因重組實驗查覈結果：同意進行 不同意進行

附註意見(無者免填)：

國立臺南大學生物實驗安全委員會核章：_____ 年 月 日

國立臺南大學基因重組實驗

切結書

本人_____申請「國立臺南大學生物實驗安全委員會」案件，計畫名稱益生菌於蛋白質泛素化與去泛素化作用之研究，遵照「科技部基因重組實驗守則」、「國立臺南大學實驗室廢棄物清除處理要點」、「國立臺南大學毒性化學物質及有害廢棄物管理要點」及「國立臺南大學職業安全衛生工作守則」等相關規範辦理及執行。特立此切結為憑，如有不實，願自負一切法律責任。

此致

國立臺南大學

申請人：_____

(親簽章)

中 華 民 國 107 年 11 月 21 日

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表

案件編號	GR107003	單位	生科系
研究計畫名稱	益生菌於蛋白質泛素化與去泛素化作用之研究		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議) 簡述 HepG2 cell 為何種細胞，是否已轉殖相關基因片段？此 cell 的用途為何？		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	107 年 12 月 07 日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

申請者回覆：

hepG2 為一種肝癌細胞，實驗前無轉殖 Ubiquitination 片段。使用此細胞的目的為研究本計畫所探討之泛素化與去泛素化。

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表

案件編號	GR107003	單位	生科系
研究計畫名稱	益生菌於蛋白質泛素化與去泛素化作用之研究		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
	<p style="font-size: 1.2em;">研究者若能嚴格遵守“基因重組實驗守則”之規定，應是可執行的。</p>		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	107年10月8日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學基因重組實驗申請同意書

附表一

凡進行基因重組實驗須由計畫主持人或實驗負責人填寫本表，送本校生物實驗安全委員會覈實同意並簽名後，發還申請人並保留影本。向有關機構申請研究計畫經費時，將影本隨附於計畫書備查。研究計畫核准後，所進行之基因重組實驗須與填寫內容相符，如實驗變更至更高安全等級，須再另填寫「申請同意書」報請生物實驗安全委員會同意。

研究計畫名稱：_探討甘草與菊花對肝癌細胞於泛素訊號調控與免疫活化之機轉_____

計畫主持人：_____ 職稱：_____教授_____ 電話及傳真：_____

執行機構、系所：_____國立台南大學生物科技學系_____

1、實驗內容： 是否進行基因重組之實驗？ -----是

是否進行微生物培養的實驗？ -----是

是否進行基因轉殖之動物實驗？ -----是

是否進行基因轉殖之植物實驗？ -----是

是否為自交植物？ -----是

2、重組基因來源、宿主之安全等級及名稱（參考國科會基因重組實驗守則）

a.重組基因來源名稱：_____

第一級危險群，第二級危險群，第三級危險群，第四級危險群，動物，植物

b.進行重組基因之微生物或病毒宿主名稱：_E. coli_____

第一級危險群，第二級危險群，第三級危險群，第四級危險群

c.進行重組基因之細胞、植物或動物宿主名稱：_____

3、基因轉殖實驗設備及轉殖方法

a.具備之基因轉殖之動物實驗設備：SPF 設備； IVC 設備；

其他〔名稱〕_____

b.具備之基因轉殖之植物實驗設備：生長箱； 溫室； 農場；

其他〔名稱〕_____

c.基因轉殖方法：virus； microinjection； liposome； gene gun； Agrobacterium

其他〔名稱〕_____

4、進行本研究所需之安全等級：P1 P2 P3 P4

5、進行本研究之實驗室 _____ 其生物安全等級：P1

如進行實驗安全等級 P2 以上之實驗研究，請提供共同計劃基因重組實驗申請同意書，以供查證。

進行本研究之實驗室 _____ 其生物安全等級：P2 P2+ P3 P

6、與基因重組有關的實驗目的及詳細實驗步驟

實驗目的及詳細實驗步驟：

一、實驗目的：泛素化降解途徑廣泛存在每個細胞中。想了解多酚類化合物對去泛素化酵素作用機轉，因此製造 mRFP-Ub 或 Ub^{G76V}-YFP 重組蛋白，以利於研究。

二、實驗詳細步驟：將一段含有泛素的DNA序列，利用設計出的引子synthetic forward and reverse oligonucleotides fp 5'-GCTAGCACCACCATGGCCT-3' and rp5'-TAGATCCGGTGGATCCCGG-3'，以聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction; PCR) 增幅片段。PCR機器(Thermo, Massachusetts)設定94°C→52.5°C→72°C循環後，藉由Clean and Gel Extraction Kit (BioKit, Taiwan) 將PCR產物中的雜質去除。接著PCR產物與T&A cloning vector (Yeastern, Taipei, Taiwan)接合並以heat shock方式送入勝任細胞中(DH5a)。接著送Gemomics 公司定序。

接著將轉型成功的 *E. coli* 以萃取質體，再以限制酶切，與也用相同限制酶切的載體 p3XFLAG-CMV-14 進行接合並以 heat shock 方式送入勝任細胞中(DH5a)。或將轉型成功的 *E. coli* 萃取質體，再送入 cell 中。

將 HepG2 細胞 (0.12×10^6 或 1×10^6 個細胞) 培養在 24 或 6 孔微量滴定板中，每孔 500 或 1000 μ L 培養基中生長 24 小時。使用 PolyJet 用 1 μ g Ub^{G76V}-YFP plasmid DNA 轉染細胞。轉染後 18 小時，將轉染細胞的培養基更換為 0.5mg / mL G418 二硫酸鹽。

計畫主持人(申請人)簽名：__

107年 11 月 21 日

生物實驗安全委員會查覈欄 (以上基因重組實驗資料，由生物實驗安全委員會覈實同意並核章後，發還申請人並保留影本。任一項目不合適或不完備，則退還請申請人改善或更正。)

本項基因重組實驗查覈結果：同意進行 不同意進行

附註意見(無者免填)：

國立臺南大學生物實驗安全委員會核章：_____ 年 月 日

國立臺南大學基因重組實驗

切結書

本人_____申請「國立臺南大學生物實驗安全委員會」案件，計畫名稱探討甘草與菊花對肝癌細胞於泛素訊號調控與免疫活化之機轉，遵照「科技部基因重組實驗守則」、「國立臺南大學實驗室廢棄物清除處理要點」、「國立臺南大學毒性化學物質及有害廢棄物管理要點」及「國立臺南大學職業安全衛生工作守則」等相關規範辦理及執行。特立此切結為憑，如有不實，願自負一切法律責任。

此致

國立臺南大學

申請人：_

(親簽章)

中 華 民 國 107 年 11 月 21 日

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表

案件編號	GR107004	單位	生科系
研究計畫名稱	探討甘草與菊花對肝癌細胞於泛素訊號調控與免疫活化之機轉		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
	<ol style="list-style-type: none"> 1. 基因重組實驗設計、操作步驟皆符合政府相關規定。 2. 申請案-重組基因來源為第一級危險群，本校設備亦符合實驗所需。 3. 請申請者注意實驗後相關廢棄物之後續處理。 4. 同意進行 		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	107年12月03日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 21331111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表

案件編號	GR107004	單位	生科系
研究計畫名稱	探討甘草與菊花對肝癌細胞於泛素訊號調控與免疫活化之機轉		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
	研究者若能嚴格遵守"基因重組實驗守則"之規定，應是可執行的		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	107年12月8日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 21331111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學基因重組實驗申請同意書

附表一

凡進行基因重組實驗須由計畫主持人或實驗負責人填寫本表，送本校生物實驗安全委員會覈實同意並簽名後，發還申請人並保留影本。向有關機構申請研究計畫經費時，將影本隨附於計畫書備查。研究計畫核准後，所進行之基因重組實驗須與填寫內容相符，如實驗變更至更高安全等級，須再另填寫「申請同意書」報請生物實驗安全委員會同意。

研究計畫名稱：Fatty acid biosynthesis redirected to promote efficient accumulation of medium-chain fatty acids in Trifolium leaf tissues

計畫主持人：_____ 職稱：助理教授 電話及傳真：06-2133111 轉

執行機構、系所：國立台南大學生物科技系

- 1、實驗內容：
 - 是否進行基因重組之實驗？ -----■是
 - 是否進行微生物培養的實驗？ -----■是
 - 是否進行基因轉殖之動物實驗？ -----□是
 - 是否進行基因轉殖之植物實驗？ -----■是
 - 是否為自交植物？ -----■是
- 2、重組基因來源、宿主之安全等級及名稱（參考國科會基因重組實驗守則）
 - a.重組基因來源名稱：阿拉伯芥、三葉草
第一級危險群，第二級危險群，第三級危險群，第四級危險群，動物，植物
 - b.進行重組基因之微生物或病毒宿主名稱：E. coli, yeast, Agrobacterium
第一級危險群，第二級危險群，第三級危險群，第四級危險群
 - c.進行重組基因之細胞、植物或動物宿主名稱：阿拉伯芥、三葉草愈傷組織
- 3、基因轉殖實驗設備及轉殖方法
 - a.具備之基因轉殖之動物實驗設備：SPF 設備； IVC 設備；
其他〔名稱〕_____
 - b.具備之基因轉殖之植物實驗設備：生長箱； 溫室； 農場；
其他〔名稱〕_____
 - c.基因轉殖方法：virus； microinjection； liposome； gene gun； Agrobacterium
其他〔名稱〕_____
- 4、進行本研究所需之安全等級：■P1 P2 P3 P4
- 5、進行本研究之實驗室 生科系格致樓 其生物安全等級：■P1 P2 P2+ P3 P4
- 6、與基因重組有關的實驗目的及詳細實驗步驟

實驗目的及詳細實驗步驟：

實驗目的：中鏈脂肪酸（如己酸）具有合適的碳鏈長度（含有 6 至 14 個碳原子），是生物燃料合成的前體，由於中鏈脂肪酸溶解度低，具有高附加值，在國際間已將其視為新興能源物質。以阿拉伯芥 三叶草 為模式生物，找出中鏈脂肪酸相關的調控因子，藉以改造脂肪酸合成途徑，期望生產出容易轉化為燃料的中鏈脂肪酸，從而獲得具有高辛烷值的生物燃料，並進而建立一永續性與環保的再生能源。

實驗步驟

1. 植物材料與生長條件：阿拉伯芥。三叶草
2. 先利用生物資訊數據庫搜索：基因功能預測阿拉伯芥相關中鏈脂肪酸基因表現。數據分析和基因表達調控信息。
3. 利用酵母單雜交(Y1H)系統，建立有關的蛋白質及相應基因的相互網路，通過基因失活或超量表

達等技術，分析基因網路上關鍵基因的功能。

4. 阿拉伯芥中脂肪酸合成與代謝調控有關基因的選殖。
5. 植物油脂萃取與脂肪酸成分分析：液相層析質譜儀(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)。利用氣相層析儀(GC, Gas Chromatography)偵測實驗所得之轉酯化產物。

計畫主持人(申請人)簽名：

- 107年 11月 30日

生物實驗安全委員會查覈欄 (以上基因重組實驗資料，由生物實驗安全委員會覈實同意並核章後，發還申請人並保留影本。任一項目不合適或不完備，則退還請申請人改善或更正。)

本項基因重組實驗查覈結果：同意進行 不同意進行

附註意見(無者免填)：

國立臺南大學生物實驗安全委員會核章：_____ 年 月 日

國立臺南大學基因重組實驗

切結書

本人：_____申請「國立臺南大學生物實驗安全委員會」案件，
計畫名稱 Fatty acid biosynthesis redirected to promote efficient
accumulation of medium-chain fatty acids in Trifolium leaf tissues，
遵照「科技部基因重組實驗守則」、「國立臺南大學實驗室廢棄
物清除處理要點」、「國立臺南大學毒性化學物質及有害廢棄物
管理要點」及「國立臺南大學職業安全衛生工作守則」等相關規
範辦理及執行。特立此切結為憑，如有不實，願自負一切法律責
任。

此致

國立臺南大學

申請人：_____ (親簽章)

中 華 民 國 107 年 11 月 30 日

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表

案件編號	GR107005	單位	生科系
研究計畫 名稱	Fatty acid biosynthesis redirected to promote efficient accumulation of medium-chain fatty acids in Trifolium leaf tissues		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
	研究若能嚴格遵守“基因重組實驗守則”， 應是可行。		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	107年12月8日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 21331111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表

案件編號	GR107005	單位	生科系
研究計畫 名稱	Fatty acid biosynthesis redirected to promote efficient accumulation of medium-chain fatty acids in Trifolium leaf tissues		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
	請遵照”科技部基因重組實驗守則”之程序執行		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	107年12月06日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學基因重組實驗申請同意書

附表一

凡進行基因重組實驗須由計畫主持人或實驗負責人填寫本表，送本校生物實驗安全委員會覈實同意並簽名後，發還申請人並保留影本。向有關機構申請研究計畫經費時，將影本隨附於計畫書備查。研究計畫核准後，所進行之基因重組實驗須與填寫內容相符，如實驗變更至更高安全等級，須再另填寫「申請同意書」報請生物實驗安全委員會同意。

研究計畫名稱：植物關聯性微生物在土壤固碳所扮演的角色(the role of plant associated microorganisms in carbon sequestration)

計畫主持人： _____ 職稱： 助理教授 電話及傳真： 06-2133111 轉

執行機構、系所： 國立台南大學生物科技系

- 1、實驗內容： 是否進行基因重組之實驗？ -----是
- 是否進行微生物培養的實驗？ -----是
- 是否進行基因轉殖之動物實驗？ -----是
- 是否進行基因轉殖之植物實驗？ -----是
- 是否為自交植物？ -----是

2、重組基因來源、宿主之安全等級及名稱（參考國科會基因重組實驗守則）

a.重組基因來源名稱：阿拉伯芥、三葉草

第一級危險群，第二級危險群，第三級危險群，第四級危險群，動物，植物

b.進行重組基因之微生物或病毒宿主名稱：E. coli, yeast, Agrobacterium

第一級危險群，第二級危險群，第三級危險群，第四級危險群

c.進行重組基因之細胞、植物或動物宿主名稱：阿拉伯芥、三葉草愈傷組織

3、基因轉殖實驗設備及轉殖方法

a.具備之基因轉殖之動物實驗設備：SPF 設備； IVC 設備；

其他〔名稱〕 _____

b.具備之基因轉殖之植物實驗設備：生長箱； 溫室； 農場；

其他〔名稱〕 _____

c.基因轉殖方法：virus； microinjection； liposome； gene gun； Agrobacterium

其他〔名稱〕 _____

4、進行本研究所需之安全等級：P1 P2 P3 P4

5、進行本研究之實驗室生科系格致樓 [其生物安全等級：P1

如進行實驗安全等級 P2 以上之實驗研究，請提供共同計劃基因重組實驗申請同意書，以供查證。

進行本研究之實驗室 _____ 其生物安全等級：P2 P2+ P3 P4

6、與基因重組有關的實驗目的及詳細實驗步驟

實驗目的及詳細實驗步驟：

實驗目的：土壤微生物扮演極為重要的角色，故探討植物關聯性微生物在土壤固碳所扮演的角色(the role of plant associated microorganisms in carbon sequestration)。主要內容初步以探討影響根圈微生物群落的相關因子(influencing factors)為主，包括生物性因子(biotic factors)，如植物種類、植物發育階段、植物病原的感染，及人類活動等等；非生物性因子(abiotic factors)，包括土壤種類及結構、氣候如 CO₂ 濃度、溫度等等。

(表格請自行延伸)

實驗步驟：

實驗將進行生物性因子(biotic factors)之分析，植物以活體外進行液態震盪培養法(in vitro plant culture on rotatory shaker)，分離根分泌物化合物並以質譜鑑定；非生物性因子(abiotic factors，包括 CO₂ 濃度與土壤溫度)之分析，將進行土壤培養法，分離並鑑定根分泌物化合物(compound characterization)，及鑑定微生物種類(microbial identification)。

計畫主持人(申請人)簽名：

— 107 年 11 月 30 日

生物實驗安全委員會查覈欄 (以上基因重組實驗資料，由生物實驗安全委員會覈實同意並核章後，發還申請人並保留影本。任一項目不合適或不完備，則退還請申請人改善或更正。)

本項基因重組實驗查覈結果：同意進行 不同意進行

附註意見(無者免填)：

國立臺南大學生物實驗安全委員會核章：_____ 年 月 日

國立臺南大學基因重組實驗

切結書

本人 _____ 申請「國立臺南大學生物實驗安全委員會」案件，計畫名稱 植物關聯性微生物在土壤固碳所扮演的角色(the role of plant associated microorganisms in carbon sequestration)，遵照「科技部基因重組實驗守則」、「國立臺南大學實驗室廢棄物清除處理要點」、「國立臺南大學毒性化學物質及有害廢棄物管理要點」及「國立臺南大學職業安全衛生工作守則」等相關規範辦理及執行。特立此切結為憑，如有不實，願自負一切法律責任。

此致

國立臺南大學

申請人：_____ (親簽章)

中 華 民 國 107 年 11 月 30 日

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表

案件編號	GR107006	單位	生科系
研究計畫 名稱	植物關聯性微生物在土壤固碳所扮演的角色 (the role of plant associated microorganisms in carbon sequestration)		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	<p>(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 基因重組實驗設計、操作步驟皆符合政府相關規定。 2. 請注意實驗後產生之廢棄物後續處理。 3. 同意進行。 		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	107年12月03日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表

案件編號	GR107006	單位	生科系
研究計畫 名稱	植物關聯性微生物在土壤固碳所扮演的角色 (the role of plant associated microorganisms in carbon sequestration)		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
	<p>請遵照”科技部基因重組實驗守則”之程序執行-</p> <hr style="width: 50%; margin: auto;"/>		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	107年12月06日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學基因重組實驗申請同意書

附表一

凡進行基因重組實驗須由計畫主持人或實驗負責人填寫本表，送本校生物實驗安全委員會覈實同意並簽名後，發還申請人並保留影本。向有關機構申請研究計畫經費時，將影本隨附於計畫書備查。研究計畫核准後，所進行之基因重組實驗須與填寫內容相符，如實驗變更至更高安全等級，須再另填寫「申請同意書」報請生物實驗安全委員會同意。

研究計畫名稱：**p53 和 NRF2 在 LRWD1 的轉錄調節和抗氧化活性的作用**

計畫主持人：_____ 職稱：教授 電話及傳真：06-2133111#

執行機構、系所：生物科技系

- 1、實驗內容：是否進行基因重組之實驗？-----是
是否進行微生物培養的實驗？-----是
是否進行基因轉殖之動物實驗？-----是
是否進行基因轉殖之植物實驗？-----是
是否為自交植物？-----是
- 2、重組基因來源、宿主之安全等級及名稱（參考國科會基因重組實驗守則）
 - a. 重組基因來源名稱：人類正常睪丸 Hs 181.Tes 細胞 (human normal testis)、人類睪丸癌 NTERA-2 cl.D1 細胞 (pluripotent human testicular embryonal carcinoma) 細胞株、卵巢癌細胞株 A2780s (p53 wild-type), OVCAR-3 (p53 mutant), SKOV3 (p53 wild-type, loss of p53 function)
第一級危險群, 第二級危險群, 第三級危險群, 第四級危險群, 動物, 植物
 - b. 進行重組基因之微生物或病毒宿主名稱：E.coli
第一級危險群, 第二級危險群, 第三級危險群, 第四級危險群
 - c. 進行重組基因之細胞、植物或動物宿主名稱：人類正常睪丸細胞 Hs 181.Tes、人類睪丸癌細胞株 NTERA-2 cl.D1、卵巢癌細胞株 A2780s (p53 wild-type), OVCAR-3 (p53 mutant), SKOV3 (p53 wild-type, loss of p53 function)
- 3、基因轉殖實驗設備及轉殖方法
 - a. 具備之基因轉殖之動物實驗設備：SPF 設備; IVC 設備;
其他〔名稱〕_____
 - b. 具備之基因轉殖之植物實驗設備：生長箱; 溫室; 農場;
其他〔名稱〕_____
 - c. 基因轉殖方法：virus; microinjection; liposome; gene gun; Agrobacterium
其他〔名稱〕_____
- 4、進行本研究所需之安全等級：P1 P2 P3 P4
- 5、進行本研究之實驗室：國立臺南大學格致樓! 其生物安全等級：P1 P2 P2+ P3
P4

6、與基因重組有關的實驗目的及詳細實驗步驟

實驗目的及詳細實驗步驟：

實驗目的：

本研究團隊先前的研究成果顯示LRWD1的基因啟動子上的p53轉錄因子結合位置 (p53 response element, p53RE) 區域在精蟲活動力差的病人，具有較高的甲基化現象，P53在生殖細胞早期減數分裂前及減數分裂中的DNA damage及 DNA repair中扮演重要角色，P53是精蟲的DNA damage後維持DNA完整性的關鍵之一，因此P53被認為是人類精蟲DNA damage的新指標 (indicator)。睪丸的p53中藉由調控apoptosis以去除多餘的spermatogonia，以維持生殖細胞的恆定 (germline homeostasis) (1-4)。

本研究擬探討p53轉錄因子結合位置 (p53 response element, p53RE) 對於LRWD1的轉錄調控及如何因環境對於細胞的壓迫來調控LRWD1的表現，以維護細胞基因體的完整性。首先將藉由Chip及EMSA等實驗，確認p53在LRWD1基因啟動子的p53RE的結合，並且利用螢光蟲冷光報導基因luciferase的表現進行啟動子活性的分析，藉由細胞給予H₂O₂及Camptothecin (CPT)等造成DNA雙股斷裂的試劑處理，以釐清在外界逆境的壓迫下，LRWD1與p53的表現及p53對於LRWD1的轉錄調控。將藉由site-direct mutagenesis方法將LRWD1基因啟動子上的p53RE破壞以進一步證實p53RE對於LRWD1基因表現及對抗氧化壓力以維護DNA完整性的重要性。也將藉助免疫螢光分析 (immunofluorescence assay) 或蛋白質分析 (western blot)，可以幫助瞭解LRWD1受p53轉錄因子調控及表現情形。此研究的完成對於瞭解睪丸細胞對於逆境對抗及確保基因體完整性，應具有極大的幫助。另外本研究擬以p53(wild)及p53(-/-)小鼠為研究對象探討在小鼠沒有p53的狀況下，LRWD1的表現情形；另外，你水中給予小鼠鄰苯二甲酸二辛酯 (di(2-ethylhexyl)phthalate, DEHP) (產生ROS) 及Vit E (消除ROS) 的連續8週後，分析不同品系p53(wild)及p53(-/-)小鼠氧化壓力下LRWD1的表現情形，藉以了解在氧化壓力下，p53如何調控LRWD1的表現及維護基因體完整性，並藉由睪丸及精液分析以釐清LRWD1在睪丸抗氧化壓力及造精過程的角色，希望對於睪丸抗氧化機制有更深入的了解。

先前研究顯示LRWD1受抗氧化因子NRF2轉錄因子的調控，而在氧化壓力下p53會增強LRWD1基因的表現，也就是說此兩個轉錄因子NRF2及p53皆能結合於LRWD1的基因啟動子上，各別調控LRWD1的轉錄活性，但對於此兩種轉錄因子對於LRWD1基因表現的相互協調或拮抗作用及如何協調使細胞內氧化壓力的穩定，尚未清楚。生殖細胞的基因體穩定與正確特別重要，因此本研究將針對細胞中轉錄因子NRF2及p53如何在氧化壓力下，如何協調降低細胞內的氧化壓力，避免氧化壓力的傷害，以維持睪丸細胞的基因體正確性。藉由本研究探討轉錄因子NRF2及p53作用調控LRWD1的表現，將有助於細胞抗氧化壓力機制的了解，對於氧化壓力造成的基因缺陷或疾病，例如：遺傳疾病、慢性病或癌症等，應該有極大幫忙。因此本年度研究將以睪丸癌細胞株NT2D1及卵巢癌細胞株A2780s (p53 wild), SKOV3 (p53 -/-) 等細胞株為研究材料，探討p53, NRF2對於氧化壓力對於LRWD1的表現調控及細胞的影響，本研究對於細胞抗氧化機制，必能更加精進，也可以作為癌症發生及控制的參考。

實驗步驟

1. 轉染轉殖質體使細胞大量表現 LRWD1 (overexpression LRWD1)

進行轉型作用 (transfection) 的前一天, 將數目 1.0×10^5 的人類正常睪丸 Hs 181.Tes 細胞 (human normal testis)、人類睪丸癌 NTERA-2 cl.D1 細胞 (pluripotent human testicular embryonal carcinoma) 或卵巢癌細胞株 A2780s (p53 wild-type), OVCAR-3 (p53 mutant), SKOV3 (p53 wild-type, loss of p53 function) 培養於 12-well 盤中, 培養於 37°C 、5% CO_2 24 小時後, 配置每 well 含有總量為 $1\mu\text{g}$ 的 plasmid DNA、 $30\mu\text{l}$ H-DMEM (Gibco, 12800-017) 及 $0.6\mu\text{l}$ TurboFect Transfection Reagent (Thermo Fisher Scientific, R0531), Vortex 5 秒, 混合均勻後室溫靜置 15min。將 TurboFect Transfection Reagent Mix 加入 96-well 盤中, 培養於 37°C 、5% CO_2 24 小時。

2. 真核細胞之基因阻斷 (gene knockdown) 試驗

前一天以 2×10^5 cell/ml 培養於 6-well plate, 放入含有 5% CO_2 的 37°C 細胞培養箱培養 24 小時。待細胞長至 8 分滿, 使用 Lipofectamine® 3000 Reagent 試劑進行轉型作用

(co-transfection)。配製所需的 Lipofectamine® 3000 Reagent: 將從中央研究院 RNAi 核心設施 (National RNAi Core Facility) 購得的 shRNA-LRWD1, shRNA-NRF2, 及利用 *LRWD1* 及 *NRF2* 基因所構築的質體混合於 Lipofectamine® 3000 Reagent 中, 以 Vortex 震盪混和均勻, 室溫下靜置 10 分鐘, 加置 6-well plate 中平移搖晃混勻。將進行轉染作用的細胞培養於 5% CO_2 的 37°C 環境中 24 小時。隔天加入 25 mg/ml puromycine 置 6-well plate 中, 再於 5% CO_2 的 37°C 培養箱內培養 4 天, 進行細胞篩選。去除培養液, 以 1X PBS 清洗後, 加入 $500\mu\text{l}$ 0.05% Trypsin-EDTA 於 37°C 靜置 2 分鐘, 加入 $500\mu\text{l}$ 培養液將細胞蒐集進 1.5ml 微量離心管中, 取出新的 10 公分培養盤, 加入 7ml 培養液, 再將 1ml 細胞懸浮液全部培養至 10 公分培養盤中, 細胞置於 5% CO_2 的 37°C 細胞培養箱內培養。細胞約兩至三天長滿, 長滿後將 10 公分培養盤取出, 去除舊的培養液, 以 10ml 1XPBS 潤洗後, 加入 1.5ml 0.05% Trypsin-EDTA 於 37°C 靜置 2 分鐘後, 去除 Trypsin-EDTA solution 後放入 37°C 、5% CO_2 的細胞培養箱繼續作用 3 分鐘使細胞呈懸浮狀。加入 3ml 含有 7% DMSO (作為抗凍劑) 之培養液, 將細胞由培養盤上沖下並充分混和均勻, 各取 1ml 至抗凍管並插入以預冷為 4°C 的漸凍盒中, 放置於 -80°C 中作用 16~18 小時, 再放入液態氮中保存。

3. 含 p53RE 的 LRWD1 啟動子構築完成 pGL3 basic-LRWD1 promoter 轉殖質體構築

將 LRWD1 基因上游區域含有 p53RE 位置的轉錄起始點附近約 0.6 kb (-515 至 +53) 片段, 以生物資訊軟體 Vector NTI 分析其具有的限制酵素切點 (Restriction Enzyme Map Analysis), 挑選 *NheI* 及 *HindIII* 作為轉殖質體構築的限制酵素。於正向引子 (forward primer) 接上 *NheI* 限制酵素辨識位置 (CTA-G¹CTAGC) 和反向引子 (reverse primer) 接上 *HindIII* 限制酵素辨識位置 (A¹AGCTT-GGG), 經 PCR 反應所得的產物與 pGL3-basic vector 正向相接, 完成 pGL3 basic-LRWD1 promoter 轉殖質體構築。

4. 特定變異點試驗 (site-directed mutagenesis) 完成 pGL3 basic-LRWD1 promoter^{Ap53} 轉殖質體構築

將依照 QuikChange II Site-Directed Mutagenesis Kit ; Cat. No.: AG-210518 (Agilent Tech.) 的建議步驟進行。取 400 ng plasmid DNA, 加入 0.5 μ l 突變特定變異點 (p53RE) 的引子對 (primer set, 10 μ m), 0.5 μ l dNTP (10 mM), 2.5 μ l 10X Rxn buffer, 0.8 μ l Pfu Turbo, 10% DMSO, 之後補二次水至 25 μ l。PCR 反應條件為: 95 $^{\circ}$ C 作用 1 分鐘, 使雙股 DNA 變性, 再以循環式的裂解溫度 95 $^{\circ}$ C 30 秒、煉合溫度 55 $^{\circ}$ C 1 分鐘、延長溫度 68 $^{\circ}$ C 7 分 30 秒進行 24 個循環, 最後以 68 $^{\circ}$ C 處理 10 分鐘。將聚合酵素連鎖反應產物置於冰上 2 分鐘, 加入 1 μ l DpnI (200 U), 3 μ l Torngos (QuikChange[®] Site-Directed Mutagenesis Kit), 之後補二次水至 30 μ l, 於 37 $^{\circ}$ C 水浴培養 2 小時後, 進行大腸桿菌轉型作用及質體萃取確認是否基因改造成功, 完成 pGL3 basic-LRWD1 promoter^{Ap53} 轉殖質體構築。

計畫主持人(申請人)簽名：__

107 年 11 月 30 日

.....
生物實驗安全委員會查覈欄 (以上基因重組實驗資料，由生物實驗安全委員會覈實同意並核章後，發還申請人並保留影本。任一項目不合適或不完備，則退還請申請人改善或更正。)

本項基因重組實驗查覈結果：同意進行 不同意進行

附註意見(無者免填)：

國立臺南大學生物實驗安全委員會核章：_____ 年 月 日

國立臺南大學基因重組實驗

切結書

本人_____申請「國立臺南大學生物實驗安全委員會」案件，計畫名稱：**p53 和 NRF2 在 LRWD1 的轉錄調節和抗氧化活性的作用**，遵照「國科會基因重組實驗守則」、「國立臺南大學實驗室廢棄物清除處理要點」、「國立臺南大學毒性化學物質及有害廢棄物管理要點」及「國立臺南大學職業安全衛生工作守則」等相關規範辦理及執行。特立此切結為憑，如有不實，願自負一切法律責任。

此致

國立臺南大學

申請人：_

_(親簽章)

中 華 民 國 107 年 11 月 30 日

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表

案件編號	GR107007	單位	生科系
研究計畫名稱	p53 和 NRF2 在 LRWD1 的轉錄調節和抗氧化活性的作用		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
	<ol style="list-style-type: none"> 1. 基因重組實驗設計、操作步驟皆符合政府相關規定。 2. 申請案-重組基因來源為第一級危險群，本校設備亦符合實驗所需。 3. 請申請者注意實驗後相關廢棄物之後續處理。 4. 同意進行 		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	107年12月12日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表

案件編號	GR107007	單位	生科系
研究計畫名稱	p53 和 NRF2 在 LRWD1 的轉錄調節和抗氧化活性的作用		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	107年12月12日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 21331111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學基因重組實驗申請同意書

附表一

凡進行基因重組實驗須由計畫主持人或實驗負責人填寫本表，送本校生物實驗安全委員會覈實同意並簽名後，發還申請人並保留影本。向有關機構申請研究計畫經費時，將影本隨附於計畫書備查。研究計畫核准後，所進行之基因重組實驗須與填寫內容相符，如實驗變更至更高安全等級，須再另填寫「申請同意書」報請生物實驗安全委員會同意。

研究計畫名稱：

解析光自營生物對環境汙染物之耐受機制：應用遺傳學工具於模式生物單胞藻之可行性初探

計畫主持人： _____ 職稱：助理教授 電話及傳真：06-2133111 #

執行機構、系所：國立臺南大學 生物科技學系

- 1、實驗內容： 是否進行基因重組之實驗？ -----是
是否進行微生物培養的實驗？ -----是
是否進行基因轉殖之動物實驗？ -----是
是否進行基因轉殖之植物實驗？ -----是 (藻類)
是否為自交植物？ -----是
- 2、重組基因來源、宿主之安全等級及名稱 (參考國科會基因重組實驗守則)
 - a.重組基因來源名稱：Streptoalloteichus hindustanus
第一級危險群，第二級危險群，第三級危險群，第四級危險群，動物，植物
 - b.進行重組基因之微生物或病毒宿主名稱：大腸菌 E. coli
第一級危險群，第二級危險群，第三級危險群，第四級危險群
 - c.進行重組基因之細胞、植物或動物宿主名稱：單胞藻衣藻 Chlamydomonas reinhardtii
- 3、基因轉殖實驗設備及轉殖方法
 - a.具備之基因轉殖之動物實驗設備：SPF 設備； IVC 設備；
其他〔名稱〕 _____
 - b.具備之基因轉殖之植物實驗設備：生長箱； 溫室； 農場；
其他〔名稱〕 _____
 - c.基因轉殖方法：virus; microinjection; liposome; gene gun; Agrobacterium
其他〔名稱〕 electroporation
- 4、進行本研究所需之安全等級：P1 P2 P3 P4
- 5、進行本研究之實驗室 _____ 實驗室 _____ 其生物安全等級：P1
如進行實驗安全等級 P2 以上之實驗研究，請提供共同計劃基因重組實驗申請同意書，以供查證。
進行本研究之實驗室 _____ 其生物安全等級：P2 P2+ P3 P4

6、與基因重組有關的實驗目的及詳細實驗步驟

實驗目的及詳細實驗步驟：

實驗目的：

於微藻之單胞藻模式生物衣藻(*Chlamydomonas*)，以電穿孔法轉入鏈黴菌 Aph7^r之抗藥基因，使用 hygromycine B 篩選轉植株，此為隨機插入突變株，收集此類轉植株而構建突變株種庫。將突變種庫利用低劑量的環境新興汙染物磷苯二甲酸二乙酯(DEP)培養，篩選出對 DEP 耐受度異常之突變株。分析耐受度異常之突變株的 Aph7^r轉殖插入位點，尋找受影響之基因座，並且轉回野生型的該基因，以驗證此基因對汙染物耐受性之影響。

詳細實驗步驟：

Cells. Cell strains cc-4533 from *Chlamydomonas* Stock Center , USA, will be used as the parental strains for mutagenesis. This *Chlamydomonas* strain is a widely used wild-type cell for genetic, biochemical, and cell biological analysis. Cells will be grown in TAP medium (10 mM Tris, pH 8.0; acetate; phosphate) until $\sim 2 \times 10^6$ cells/ml under the illumination cycle of 14-hr light and 10-hr dark at 22 °C.

DNA. The Aph7^r cassettes is derived from aminoglycoside phosphotransferases in *Streptomyces hygroscopicus*. The 1.7-kb Aph7^r hygromycin-resistant cassette, which contains a *Chlamydomonas* beta-tubulin promoter, the aminoglycoside phosphotransferase coding region, and a PsaD 3' UTR, will be amplified by PCR using the pHyg3 plasmid as the template. The specific PCR products will be purified by agarose gel electrophoresis with a commercial kit, and the DNA concentration will be measured using the absorbance at 260 nm.

Electroporation and selection of transformants. PCR-amplified Aph7^r DNA will be electroporated into cc-4533 mt- cells. For electroporation, cells will be grown to the mid-log phase in TAP medium and washed into TAP with 60 mM sorbitol. For one transformation, 100 ng of DNA and $\sim 3 \times 10^7$ cells will be mixed in the 4-mm cuvette and pulsed with the voltage at 800 V, resistance at 600 Ohm, capacity at 50 μ F, and time constant ~ 11 ms. The cells will be recovered in TAP medium with sorbitol for overnight and plated on the TAP-1.5% agar plate containing 10 μ g/ml of hygromycine B (Hyg) and incubated under continuous light for 7-10 days. Colonies will be scraped out for stock and for further analysis. We plan to generate $\sim 10^3$ random insertional mutants. For mutants hypersensitive to DEP, we will replica the library onto the TAP plates with 0.8 mM of DEP, a sublethal dose to the cc-4533, and selected those manifesting growth difference comparing to cc-4533.

Rescue analysis. The wild-type genomic DNA of the candidate disrupted locus will be isolated and subcloned from the BAC library containing *Chlamydomonas* genomic DNA, available from *Chlamydomonas* Stock Center , USA, using standard molecular cloning techniques. The DNA will be introduced into the mutant strain by electroporation methods as detailed above. The rescued strain will be selected based on viability using the TAP plates with 0.8 mM DEP.

計畫主持人(申請人)簽名：_____ 107 年 11 月 12 日

生物實驗安全委員會查覈欄 (以上基因重組實驗資料，由生物實驗安全委員會覈實同意並核章後，發還申請人並保留影本。任一項目不合適或不完備，則退還請申請人改善或更正。)

本項基因重組實驗查覈結果：同意進行 不同意進行

附註意見(無者免填)：

國立臺南大學生物實驗安全委員會核章：_____ 年 月 日

國立臺南大學基因重組實驗

切結書

本人_____申請「國立臺南大學生物實驗安全委員會」案件，計畫名稱 解析光自營生物對環境汙染物之耐受機制：應用遺傳學工具於模式生物單胞藻之可行性初探，遵照「科技部基因重組實驗守則」、「國立臺南大學實驗室廢棄物清除處理要點」、「國立臺南大學毒性化學物質及有害廢棄物管理要點」及「國立臺南大學職業安全衛生工作守則」等相關規範辦理及執行。特立此切結為憑，如有不實，願自負一切法律責任。

此致

國立臺南大學

申請人：_____ (親簽章)

中 華 民 國 107 年 12 月 12 日

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表

案件編號	GR107008	單位	生科系
研究計畫名稱	解析光自營生物對環境污染物之耐受機制：應用遺傳學工具於模式生物單胞藻之可行性初探		
查覈結果	<input type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/>修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
	<ol style="list-style-type: none"> 1. 基因重組實驗設計、操作步驟皆符合政府相關規定。 2. 申請案-重組基因來源為第一級危險群，本校設備亦符合實驗所需。 3. 請申請者注意實驗後相關廢棄物之後續處理。 4. 同意進行 		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	107年12月13日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 21331111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw

國立臺南大學生物實驗安全委員會審核意見表

案件編號	GR107008	單位	生科系
研究計畫 名稱	解析光自營生物對環境污染物之耐受機制：應用遺傳學工具於模式生物單胞藻之可行性初探		
查覈結果	<input checked="" type="checkbox"/> 同意進行 <input type="checkbox"/> 修正後，複審決議		
審 查 意 見	(請針對實驗目的及詳細實驗步驟提出具體審查建議)		
審查人簽章	委員核章	審畢日期	107 年 12 月 14 日

聯絡窗口：

聯絡人： 李芳儀
 聯絡電話： (06) 2133111 分機 237、663
 E-mail： bluebear@mail.nutn.edu.tw