

鯉魚鋅結合蛋白質
(Zn-binding protein) 之研究
(2001,6.15; 2004,8.30; 2006, 12.5; 2008,6.23)

- (1) 研究進展
- (2) 研究現況
- (3) 研究方法
- (4) 碩博士論文
- (5) 已發表之論文
- (6) 蛋白質之典型研究方法
- (7) 蛋白質、抗體、細胞與基因之研究

綜述論文: "鯉魚之生態、生理與其高濃度之鋅"

(附加檔案)

(1) 研究進展

發表之論文	問題與假設	時間
	水俣病	1960s
	↓	
	台灣的魚可以吃嗎？ (有無重金屬污染)	1970
	↓	
Heavy metal contents in Taiwan's cultured fish	調查台灣養殖魚貝類重金屬含量	1973
	↓	
High zinc concentration in common carp viscera	鯉魚內臟高濃度鋅之發現	1974
	↓	
	其原因與鯉魚之食性有關？	1974
	↓	↓
Effects of dietary zinc levels on zinc concentrations in tissues of common carp	人工孵化養魚， 以不同鋅濃度飼料養鯉魚	1980
	↓	
	鯉魚之高鋅與食性無關 為一自然之現象	1981
	↓	
Comparison of zinc absorption between common carp and other fresh water fishes	與鋅結合之物質 (Zn binding substance) 為何？	1984
	↓	↓
	嘗試以生化方法抽取	1990
	↓	
Comparative zinc concentrations in tissues of common carp and other aquatic organisms	以高鋅、低鋅飼養鯉魚	
	↓	
	以 ^{65}Zn 了解其吸收	1994
	↓	
Accumulation of zinc from diet and its release in common carp	以 "細胞分畫" 分離「鋅結合物質」	1981
	↓	↓
		1999
Zinc and zinc binding substance in the tissues of common carp	高鋅存在於 nuclei/cell debris fraction 中，可能係在 membrane protein 上	
		1999

發表之論文	問題與假設	時間
	↓	
Localization of Zn-binding protein in the digestive tract tissue of common carp	了解 Zn-binding protein (ZnBP) 在鯉魚消化道組織 之所在	2002
	↓	
Isolation of a Zn-binding protein mediating cell adhesion from common carp	成功地分離 ZnBP，製成 ZnBP 抗體	2003
	↓	
Binding characteristics of the Zn-binding membrane protein from common carp	了解 ZnBP 之結合特性	2006
	↓	
Association of zinc with connective tissue in the digestive tract of common carp	ZnBP 與鯉魚消化道結締組織之關係 (ZnBP 係存在於 fibroblast 上)	2006
	↓	
High Zn in erythrocyte plasma membranes of common carp	鯉魚紅血球漿膜之高鋅	2007
	↓	
Anoxia survival in common carp and crucian carp is related to high zinc concentration in tissues	鯉魚與鯽魚之能耐缺氧與其組織中之高濃度鋅有關	2008
Separation and characterization of the connective tissue cells expressing the 43 kDa zinc-binding protein from common carp	鯉魚表現 43 kDa「鋅結合蛋白質」之「結締組織之細胞」其分離與培養	2008

<p>8. cytosol-LMF</p> <p>是什麼？ 機 能？</p>		<p>6. ZnBP 與 fibroblast</p> <p>(1) fibroblast 之分離 (2) fibroblast 之培養 (3) fibroblast 與 ZnBP</p>
		<p>↑</p>
<p>7. ZnBP 之 cDNA</p> <p>ZnBP 之一次構造 ZnBP 之 cDNA gene 之 cloning</p>		<p>5. ZnBP 之分布</p> <p><i>in situ</i> (組織、細胞) ZnBP 之檢出 利用抗體 (免疫酵素、螢光) <i>in vitro</i> ZnBP 之測定 利用免疫酵素法</p> <p>鯉魚及其他魚 各種組織中， 其他生物 (豬，人) } ZnBP 之分布</p>
<p>↑</p>		<p>↑</p>
<p>3. 精製之 ZnBP</p> <p>純度之檢定 分子量之測定 等電點之測定 蛋白質組成之分析</p>	<p>→</p>	<p>4. ZnBP 之抗體</p> <p>多株抗體 單株抗體 抗體之測定 抗體之精製</p>

(3) 研究方法

(一) ZnBP 之分離與精製

1. 分離與精製之準備

(1) 材料

- a. 腸
- b. 血液
- c. 其他組織 (總，腎，肝胰，脾等)

(2) ZnBP 安定化條件之探討

- a. 低溫，凍乾，acetone powder
- b. proteasae inhibitor

2. ZnBP 之粗分畫

- (1) 細胞分畫、蔗糖梯度離心
- (2) 可溶化

3. ZnBP 之分離精製

- (1) column chromatography (gel filtration)
- (2) affinity chromatography
- (3) 電泳

SDS PAGE

nonreducing SDS PAGE

(二) 了解 ZnBP 之分布

1. in situ 檢出 ZnBP

(在組織或細胞中)

組織化學方法

2. in vitro 檢出 ZnBP

(在組織，細胞，血液)

a. 細胞分離

b. 細胞內成分之分畫

鯉腸之次細胞分畫

蔗糖梯度離心

Enzyme marker

c. 細胞外 matrix 之回收法

d. 以 ^{65}Zn binding 檢定

(a) 試管內

(b) radioautography

(三) 測定 ZnBP 之活性 (存在)

1. Zn

原子吸光法

2. SH 之測定

3. ligand 結合實驗

a. ^{65}Zn 之測定

b. ^{65}Zn 與蛋白質之結合實驗

4. 細胞外 matrix 之解析

a. 細胞外 matrix (collagen, glycoprotein, proteoglycan 等) 之
構造與機能之解析

b. 組織切片之觀察

5. 細胞接著分子

(四) 分析蛋白質

1. 蛋白質之定量

- a. UV 法
- b. micro-Lowry 法
- c. Kjeldahl 法
- d. Bradford 法
- e. SDS-PAGE
- f. 轉漬到 membrane 蛋白質之定量

2. 純化之檢定

- a. SDS-PAGE, nonreduce SDS-PAGE
- b. native PAGE

3. 分子量測定

- a. SDS-PAGE , nonreduce SDS-PAGE
- b. native PAGE
- c. gel filtration

(五) 培養鯉魚「結締組織細胞」

- a. 鯉魚血清 (carp serum) 之製備
- b. 以 time lapse video 觀察鯉魚「結締組織細胞」之細胞分裂
- c. 製備鯉魚「結締組織細胞」之細胞懸浮液
- d. 鯉魚「結締組織細胞」之細胞生長曲線測定
- e. 鯉魚「結締組織細胞」在懸浮 (suspension) 狀態下之「系列繼代培養」(serial subculture)
- f. 鯉魚「結締組織細胞」之初代外植體培養

(4) 碩博士論文

海洋生化實驗室 鯉魚高鋅相關之碩博士論文

論文題目	研究生姓名	畢業學校及系別	畢業年度
1.鯉魚內臟高濃度鋅之研究	柳家瑞	國立台灣大學 海洋研究所 碩士班	1976.06
2.鯉魚消化道含鋅物質之研究	王志騰	國立台灣海洋學院 水產食品科學研究所 碩士班	1986.06
3.鯉魚之吸收鋅	連壯林	國立台灣海洋大學 水產食品科學研究所 博士班	1993.07
4.鋅在鯉魚消化道組織細胞內之分布與含鋅物之純化	林宗正	國立台灣海洋大學 水產食品科學研究所 碩士班	1997.06
5.鯉魚消化道組織 Nuclei/Cell Debris Fraction 中與鋅結合物質之生化特性	莊佩琪	國立台灣海洋大學 水產食品科學研究所 碩士班	1998.06
6.鯉魚消化道組織對鋅之累積與釋出之研究	孫藍天	國立台灣海洋大學 水產食品科學研究所 博士班	1998.06
7.鯉魚消化道組織 Nuclei/Cell Debris Fraction 中與鋅結合物質對鋅之特異性與親和性	王明雄	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	1999.06
8.鯉魚、鯽魚、金魚及其他魚類組織之鋅及含鋅物質之生化學比較	李淑慧	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	1999.06
9.鯉魚消化道組織中與鋅特異結合之膜蛋白質的分離	謝馥如	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	1999.06

論文題目	研究生姓名	畢業學校及系別	畢業年度
10.低溫和溶氧對鯉魚組織 鋅濃度之影響	張育尹	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2001.06
11.鯉魚腎臟、皮及眼睛膜狀 組織中之鋅及「與鋅結合 物質」之所在與生化特性	陳彥樺	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2002.06
12.鯉魚血液中鋅之分布及 其紅血球對 ^{65}Zn 之 親和性	姚政源	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2002.06
13.缺鋅對鯉魚血液及 消化道組織鋅濃度之影響	杜國璽	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2003.07
14.鯉魚紅血球中鋅的分佈 及細胞膜上「與鋅結合 蛋白質」之分離	胡伯其	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2003.07
15.水溫和缺氧對鯉魚血液 和消化道組織鋅濃度之 影響	林子詠	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2003.07
16.鯉魚消化道組織「鋅結合 蛋白質」之分佈、純化 與特性	王明雄	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 博士班	2004.05
17.缺氧與鯉魚消化道組織 「鋅結合蛋白質」之關係	陳昭儀	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2004.07
18.豬精子鋅及「鋅結合蛋白 質」之分佈及其特性	顏承平	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2004.07
19.鯉魚紅血球細胞膜上「鋅 結合蛋白質」之存在與其 分離	楊舒婷	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2004.07

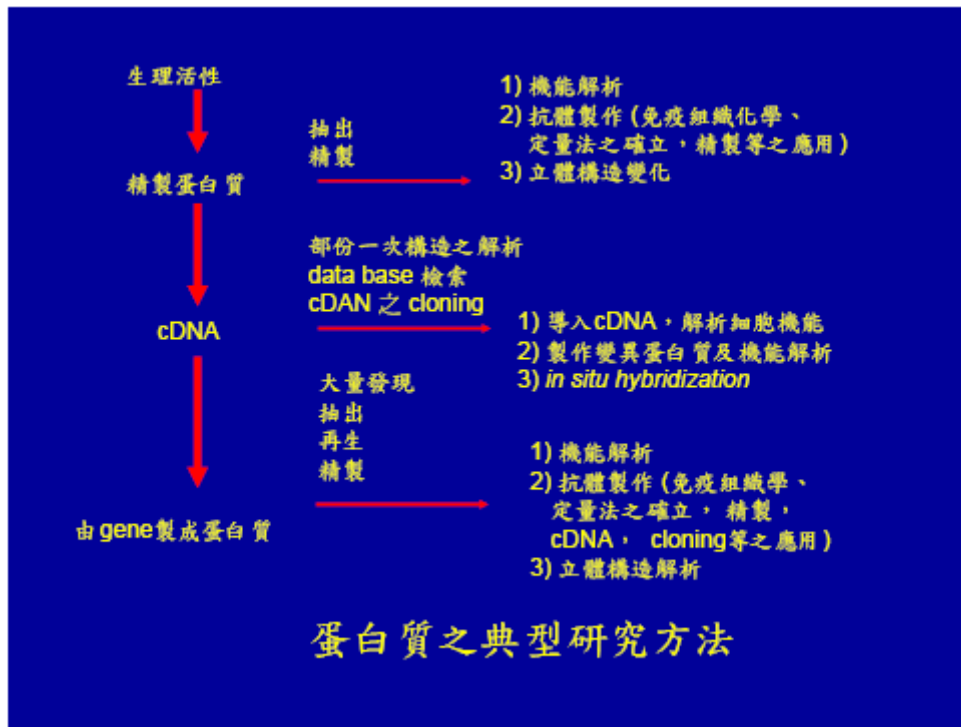
論文題目	研究生姓名	畢業學校及系別	畢業年度
20. 鯉魚消化道組織「鋅結合蛋白質」與胞外母質之關係	廖萱蓉	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 博士班	2006.06
21. 牡蠣組織之鋅及「鋅結合蛋白質」之分佈及其純化	呂鑿勳	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2006.06
22. 以免疫化學法探討鯉魚、草魚、鱧魚和吳郭魚之43 kDa「鋅結合蛋白質」之分布	黃韻潔	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2006.06
23. 人類母血與臍帶血中鋅與43 kDa「鋅結合蛋白質」之分布與特性	鍾岳穎	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2006.07
24. 鯉魚魚皮之鋅及43 kDa「鋅結合蛋白質」之分布及其特性	詹雅琪	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2006.07
25. 鯽魚組織中43 kDa「鋅結合蛋白質」之分布與特性	劉千子	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2006.07
26. 缺氧與鯉魚消化道組織「鋅結合蛋白質」和纖維母細胞之關係	張智傑	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 碩士班	2006.07
27. 鯉魚表現43 kDa「鋅結合蛋白質」之「結締組織之細胞」其分離與培養	陳彥樺	國立台灣海洋大學 食品科學研究所 博士班	2008.06

(5) 「鯉魚之高鋅」已發表之相關論文

1. Jeng SS, Huang YW. Heavy metal contents in Taiwan's cultured fish. *Bull. Inst. Zool.* 1973; **12**: 79-85.
2. Jeng SS. A simplified method for determination the concentration of zinc in aquatic animals. *J. Fish. Soc. Taiwan.* 1973; **2**: 45-47.
3. Jeng SS, Lo HW. High zinc concentration in common carp viscera. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 1974; **40**: 509.
4. Jeng SS, Sun LT. Effects of dietary zinc levels on zinc concentrations in tissues of common carp. *J. Nutr.* 1981; **111**: 134-140.
5. Jeng SS, Lian JL. Comparison of zinc absorption between common carp and other fresh water fishes. *Zool. Stud.* 1994; **33**: 78-85.
6. Sun LT, Jeng SS. Comparative zinc concentrations in tissues of common carp and other aquatic organisms. *Zool. Stud.* 1998; **37**: 184-190.
7. Jeng SS, Wang JT, Sun LT. Zinc and zinc binding substances in the tissues of common carp. *Comp. Biochem. Phys. B* 1999; **122**: 461-468.
8. Sun LT, Jeng SS. Accumulation of zinc from diet and its release in common carp. *Fish Physiol. Biochem.* 1999; **20**: 313-324.
9. Wang MS, Chuang PC, Sun LT, Jeng SS. Localization of Zn-binding protein in the digestive tract tissue of common carp. *Fish. Sci.* 2002; **68**: 484-493.
10. Jeng SS, Liao HJ, Wang MS. High Zn concentration in the digestive tract tissue of common carp *Cyprinus carpio*. *Fish. Sci.* 2002; **68**: 1181-1184.

11. Jeng SS, Wang MS. Isolation of a Zn-binding protein mediating cell adhesion from common carp. *Biochem. and Bioph. Res. Commun.* 2003; **309**: 733-742.
12. Liao HJ, Chen YH, Jeng SS. Association of Zn with connective tissue in the digestive tract of common carp. *Fish. Sci.* 2006; **72**: 893-902.
13. Wang MS, Jeng SS. Binding characteristics of the Zn-binding membrane protein from common carp. *Fish. Sci.* 2006; **72**: 436-444.
14. Jeng SS, Yau JY, Chen YH, Lin TY, Chung YY. High Zn in the erythrocyte plasma membranes of common carp *Cyprinus carpio*. *Fish. Sci.* 2007; **73**: 421-428.
15. Jeng SS, Lin TZ, Wang MS, Chang YY, Chen CY, Chang CC. Anoxia survival in common carp and crucian carp is related to high zinc concentration in tissues. *Fish. Sci.* 2008; **74**: 627-634.
16. Chen YH, Liao HJ, Jeng SS. Separation and characterization of the connective tissue cells expressing the 43 kDa zinc-binding protein from common carp. *Fish. Sci.* 2008; **74**: 1322-1329.

(6) 蛋白質之典型研究方法



(7) 蛋白質、抗體、細胞與基因之研究

