

嘉義市第 37 屆國民中小學科學展覽會

作品說明書

科 別：化學科

組 別：國中組

作品名稱：蛋中有序-蛋白質之研究

關 鍵 詞：螢光金團簇、蛋白質之胺基酸序列、半胱胺酸(cystetine)

摘要

本研究主要是在探討形成螢光金團簇時可用於當保護劑的蛋白質，根據文獻蛋白質是形成螢光金團簇最常用的保護分子，這些保護分子的共同相似點是：他們是大分子而且含有硫醇（Thiol）來進行隔離與滯留金離子，因此在還原過程中，金原子不會聚集成奈米顆粒，進而形成螢光金團簇。經由我們的實驗將易取得又便宜的雞蛋蛋白進行蛋白質分離，並將分離出的蛋白質加熱至 100 度，若會產生凝膠作用，該蛋白質應該含有一定比例的半胱氨酸(cysteine)，因半胱氨酸(cysteine)加熱後原子排列會從硫醇(S-H)變成雙硫鍵(S-S)，而半胱氨酸(cysteine)是唯一含有硫醇胺基酸，是製造螢光金團簇的重要角色，於是我們便取四個物種共 12 種不同的蛋白質，進行分析與研究。

壹、 研究動機




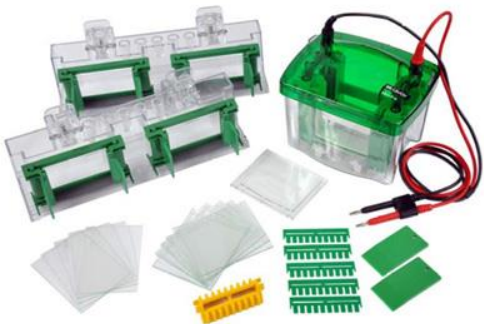
偶然間，我們在雜誌上看到了有關奈米金團簇的合成及相關研究，其中，蛋白質被拿來保護奈米金團簇，防止金團簇再進一步的結合成更大的分子。是所有蛋白質都能當保護劑還是只有特定的蛋白質能呢？首先，我們取了隨手可得的雞蛋蛋白(蛋清)來進行相關研究。

貳、 研究目的

1. 純化雞蛋蛋白中的蛋白質
2. 分析雞蛋蛋白中的蛋白質種類
3. 觀察分離出的蛋白質受熱結果
4. 分析不同動物蛋白質的胺基酸序列

參、 研究設備

實驗器材

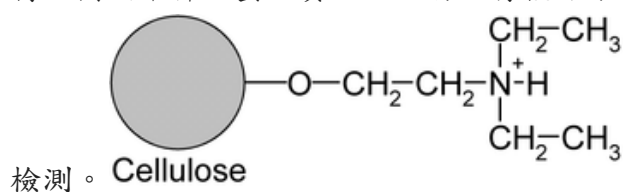
<p>Rota-mixer(旋轉震盪器)</p> 	<p>加熱器</p> 
<p>離心機</p> 	<p>蛋白質電泳槽</p> 

肆、 研究內容

實驗一：分離雞蛋蛋白中的蛋白質

(一)實驗原理：

由於蛋白質本身可能帶有正電與負電之胺基酸，但不一定會曝露與蛋白質本體外表，因此可以將表面帶負電荷的蛋白質，利用離子交換樹脂 DEAE(二乙氨基乙基纖維素)(圖一)分離和純化蛋白質。將帶負電荷的蛋白質吸引。通過增加溶劑的鹽濃度或改變溶液的 pH 以改變蛋白質上的電荷，樹脂中釋放蛋白質，並且將沒有被離子交換樹脂吸附的蛋白質也收集



圖一：離子交換樹脂 DEAE

(二)實驗步驟:

- (1) 蛋液稀釋十倍(1mL 蛋液+9mL ddH₂O)
- (2) 將蛋液混合液放入 Rota-mixer
- (3) 取 50μL 蛋液混合液為樣本 A
- (4) 剩餘蛋液混合液加入離子交換樹脂(DEAE)
- (5) 將含蛋液混合液的離子交換樹脂放入 Roter mixer 轉 5 小時
- (6) 將離子交換樹脂置入離心機內以 6000rpm 離心
- (7) 取出離子交換樹脂上層澄清液即可獲得不帶電或帶正電的蛋白質
- (8) 取 50μL 離子交換樹脂上層澄清液為樣本 B
- (9) 將離子交換樹脂下層沉澱物加入 1M NaCl 水溶液清洗，分離帶負電的蛋白質
- (10) 取帶負電的蛋白質 50μL 為樣本 C

實驗 2. 分析雞蛋蛋白中的蛋白質

(一)實驗原理:

電泳是指在均勻的電場作用下，帶電荷的分子因電荷的吸引(通電)在流體中發生移動的現象。電泳進行時，常會放入基質(matrix)來協助更有效率地分離各分子。基質是指具有多孔隙(porosity)的固體物質。

將各分子置於基質內，再通上電流，此時分子若帶負電會向陽極(anode)移動，若帶正電則往陰極(cathode)移動，其移動的速率受到各分子的大小、形狀及電荷等物理性質的影響，故可將不同的分子分開來。

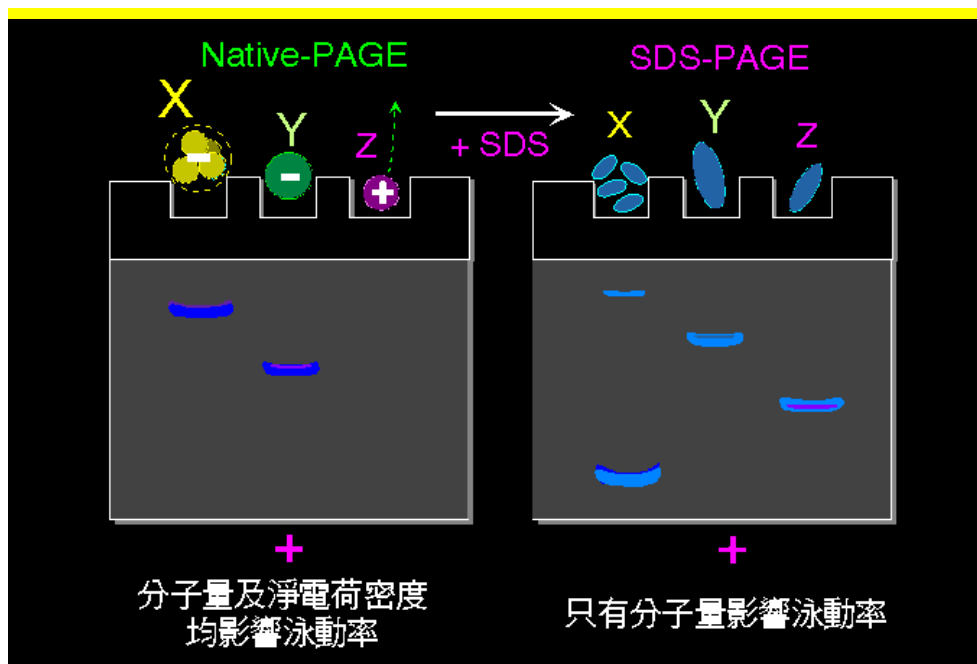
任何物質由於本身的解離作用，或表面上吸附其他帶電質點，在電場中便會向一定的電極移動。作為帶電顆粒可以是小的離子，也可是生物大分子、蛋白質、核酸、病毒顆粒、胞器等。

根據不同蛋白質的電荷、大小、形狀的不同，使其在膠體中泳動造成速率的不同，使其分離。

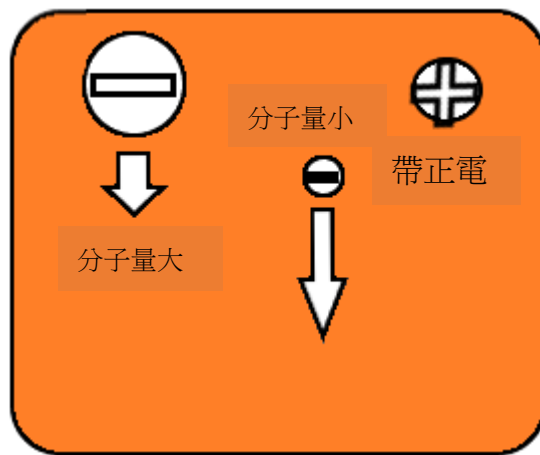
表一：SDS PAGE 與 Native-PAGE 的差異

種類	SDS PAGE	Native-PAGE
優點	一般如果是單純分離蛋白質時會較常使用 SDS PAGE，就是在 SDS PAGE 中蛋白質的泳動率僅受分子量的影響。	Native PAGE 能保持蛋白質原來的形狀，可以盡量保存蛋白質的活性，所以特別適合於電泳後要繼續做蛋白質活性分析或者活性染色時使

		用
缺點	SDS 為界面活性劑會破壞蛋白質的結構使其變性	泳動率受到三個因素影響 (形狀 代墊量 分子量)，造成無法說明蛋白質的特性 (例如：分子量、帶電量等)，也就是說只知道蛋白質有分離
原理	SDS (<u>十二烷基硫酸鈉</u>) 是一種界面活性劑，其作用為能將蛋白質拉成直線而且均勻帶負電，電泳時所有蛋白質一定是往正極跑。此種電泳法為原態膠體電泳	Native-PAGE 進行電泳時，分子量較小的較容易落下，相反的分子量較大的則卡在起點附近。雖然較大的電壓可以縮短實驗的時間，卻會得到較模糊的結果，因此實驗可能長達數個小時。



圖二:Native-PAGE 與 SDS-PAGE



圖三: Native-PAGE 示意圖

(二)實驗步驟:

- (1)取膠台、兩片玻璃、石蠟膜(parafin)，並組裝
- (2)照配方^{註1}製成分離膠體(resolving gel)，滴入兩片玻璃之間
- (3)加入酒精壓膠(去氣泡)等 30~60 分
- (4)插入齒梳，壓出鋸齒狀格子
- (5)取出膠片，組合電泳槽
- (6)電泳槽內層加入一倍的運行緩衝液(running buffer)並高過於膠(gel)
- (7)先用 50V 跑電泳，滴入待測物^{註2}，再用 50V 跑，最後用 100V 跑 100 分鐘
- (8)跑完後染色 60 分鐘，倒掉染劑，加入固定緩衝液(fixing buffer)去染(1~2hr)
- (9)分離出卵轉鐵蛋白 ovotransferrin(分子量 76000Da)卵類黏蛋白 ovomucoid(分子量 28000Da)

註 1:acrylamide、bis acyamide、APS(產生自由基)、TEMED(催化劑)、DTT(打斷硫鍵)、SDS(打斷氫鍵)

註 2:蛋白質(樣本 A、樣本 B、樣本 C)+sample buffer, Glycerol(甘油) 20mL+Bromophonol blue(染劑) 0.02g+Tris-HCl (pH6.8) 12.5mL

實驗 3. 觀察分離出的蛋白質受熱結果

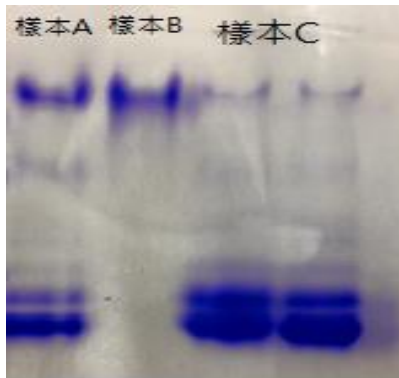
- (1)將鋁箔至於加熱器上，各滴上樣本 B、C
- (2)利用加熱器加熱至攝氏 100 度
- (3)計時 5 分鐘

實驗 4. 分析不同動物蛋白的胺基酸序列

- (1) 進入 NCBI(National Center for Biotechnology Information)網站
- (2) 分別搜尋三種動物(雞 *Gallus gallus*、鴿子 *Columba livia*、白喉帶鴉 *Zonotrichia albicollis*)的四種蛋白質(卵轉鐵蛋白 ovotransferrin、卵類黏蛋白 ovomucoid、血清白蛋白 serum albumin、膠原蛋白(I) collagen(I))的胺基酸序列
- (3) 計算 cysteine 的個數及百分比

伍、 研究結果

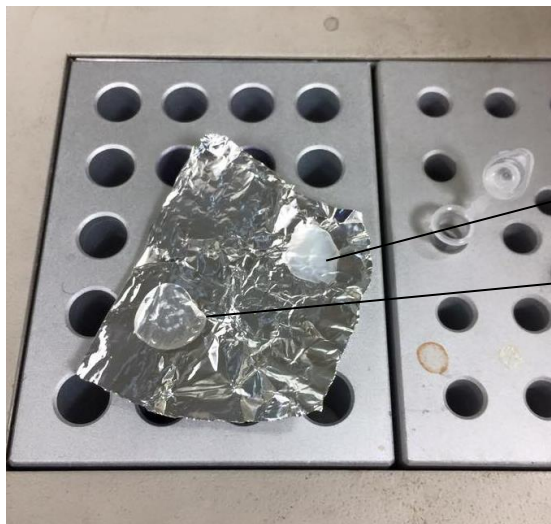
(一)電泳結果:



- 樣本 A: 未經離子交換樹脂分離的雞蛋白
樣本 B: 會被離子交換樹脂吸附的蛋白質
樣本 C: 不會被離子交換樹脂吸附之蛋白質

圖四: 雞蛋蛋白 Native-PAGE 電泳結果

(二)加熱結果:



- (1) 大蛋白 (卵轉鐵蛋白 ovotransferrin 樣本 B)
(2) 小蛋白 (卵類黏蛋白 ovomucoid 樣本 C)

圖五: 卵轉鐵蛋白 ovotranferrin 及卵類黏蛋白 ovomucoid 加熱結果

(三)胺基酸序列:

表二:各種蛋白質的胺基酸序列

蛋白質名稱	胺基酸總數	cysteine 個數	cysteine 百分比(%)	胺基酸序列
ovotransferrin Gallus gallus(雞)	705	32	4.54	1 mklilctvls lgiaavcfaa ppksvirwct
				31 isspeekcn nlrldtqqr isltevqkat
				61 yldcikaian neadaisldg gqvfeaglap
				91 yklkpiaaei yehtegstts yyavavvkkkg
				121 teftvndlqg knschtglgr sagwnipigt
				151 llhwgaiewe giesgsveqa vakffsascv
				181 pgatieqklc rckkgdptk carnapsygy
				201 sgafhclkdg kgdvafvkht tvnenapdln
				241 deyellclldg srqpvdnykt cnwarvaaha
				261 vvarddnkve diwsflskaq sdfgvdtksd
				301 fhlfpgpgkk dpvlkdfllk dsaimlkrvp
				331 slmndsqlylg feysaiqsm rkdqltpspr
				361 enriqwcavg kdekscdrw svvsngdvec
				391 tvvdetkdcj ikimkgeada valdgglvyt
				421 agvcglpvm aeryddesqc sktderpasy
				451 favavarkds nvwnnlkgk kschtavgrt
				481 agwvipmgli hnrvtgcnfd eyfsegcapg
				511 sppnsrlcql cggsggippe kvassheky
				541 fgytgalrcj vekgdvafiq hstveentgg
				571 knkadwaknl qmddfellct dgrranvmdy
				601 recnlaevpt havvvrpeka nkirdlllerq
				631 ekrfgvngse kskfmmfesq nkdllfkdlit
				661 kclfkvregt tykeflgdkf ytvisnlkct
				691 npsdilqmcj flegk
ovotransferrin Columba livia(鴿子)	709	31	4.37	1 mklllstvls fgivalclaa pqkasvrwct
				31 issaenkcn nrelmqques valscdqkst
				61 yldcikaisv sgqqilisvl gtgdvsaaawg
				91 rlgfplshwl vpviphtsss tisyavalv

				121 kkgtdftidn lqgktschtg lgrsagwnvp
				151 igtlvrrgni qwdgkdsysi eqavanffsa
				181 scvpgatteq klcrqckgda ktkcsrtgpy
				211 sgysgafhcl kdggkdiafv khttvenap
				241 eekneyellc ldgtrqvpdn ykshwarvp
				271 ahavvardds kvddiwtfls kaqerfgvgt
				301 sssfhlfgpp gkkepalkdl lfkdsaignk
				331 ripslmdsql ylgfeyysai qslqkdqlss
				361 nhrekkmrwc avgknekskc dlwsvvsnge
				391 vectvaddtk scivkimke adaisldggf
				421 vytagvcglv pvigesyde recskaagep
				451 asyfavavvk ksdgdiwnn lqgkkschta
				481 vgrtagwnip mglihnktgn cnfdeyfseg
				511 cfapgsppnsr lcqlcagsgg lppekvass
				541 hekygytga lrclvergdv afikhsivee
				571 nvdgknkedw akdlkmdqfe llctdgrran
				601 vmayrechla kvpthavvtr pekakkvrel
				631 lerqeklfgt kgvdtdrfkm fesetkdlf
				661 kdltkclvkl regitykefl gdqyyasvas
				691 lntcnpsdll qvctfledk
ovotransferrin				
Zonotrichia albicollis	968	32	3.31	1 mklalftvls lgivalcfaa pqkpsvrwct
(白喉帶鸚)				
				31 issveekken slkdqmqqen fafselqkas
				61 yldcikaisn seadaisldg gqvfeaglap
				91 yklkpiaaev yehsegstts yyavavvkkg
				121 tgfsidelqg ktschtglgr sagwvipigt
				151 lihrgaiewd gkdsgsieqa vanffsascv
				181 pgateakly rckgdaktk msrtgpysgy
				201 sgafhclkdg kgdvafvkht tvqenapaek
				241 deyellclldg trqpvdnyka chwarvpaha
				271 vvarddskvn diwnflskaq ekfgvgttst
				301 fhlfppgkk dpalkdlfk dsavqlqip
				331 slmdsqlylg feyysavqsl qqdrslpsrr
				361 dnkiqwcaig rdekkkcdw svmsngdvec
				391 vvaedtkeci tkimkgeada isldggfvyt
				421 agmcglpvm aesyednhce sqeepatyfa

				451 vavvkadkd iswnlqgkk sctavgrta
				481 gwnipmglh nrtgncnfde yfsegcapgs
				511 ppsrllcqlc ksgsgvpper cvassheqyy
				541 gytgalrcly eqgdvafikh siveentdgk
				571 nteswakdlk mdqfellctd ggranvmdyr
				601 rcnlakvpth avmarpekar qvremlenqe
				631 rlfpgkgtrr ddfnmfayes kdllfkdrtk
				661 clislrdgis ykeflgdkey aslaslntcn
				691 psdllqvctf ladnaaprvc ramaggleph
				721 laalrrelgg pavlsval lavaitfllw
				751 rfvqgrkssr kavlllgld agkllfarl
				781 lsgrdydtqt sitdssavvr lsqdkstnvt
				811 lidlpghesl rlqflerfka aaraivfvd
				841 svafqrevkd vaeflyqvlv dstvlrnapa
				871 lliacnkqdv tmaksakliq qqlekelntl
				901 rvtrsaapts ldgsatggpa qlgkkgkdfd
				931 fsqlpmkvef vecsargskg eegeadleal
				961 qkwlvkva
ovomucoid Gallus gallus(雞)	210	19	9.05	1 mamagvfvlf svlvcgflpd aafgaevdcs
				31 rfpnatdkeg kdvlvknkl rpictgdgvt
				61 ytndellcay siefgtnisk ehdgeckety
				91 pmncssyant tsedgkvmvl cnrafnpvcg
				121 tdgvytdnec llcahkeveq asvdkrhgg
				151 crkelaavsv dcseypkpc taedrplcgs
				181 dnktygnkn fcnavvesng tltlshfgkc
ovomucoid Columba livia(鴿子)	85	7	8.24	1 msamkitgaf vllalavlcl anaakenevd
				31 cseykslrg kpiycerlyq pfcgsdgkty
				61 nnkcsfkai lrsrgalhlc qagac
ovomucoid Zonotrichia albicollis(白喉帶鴉)	210	20	9.52	1 mtragilvll sfalccapdt vfgievdest
				31 ypnttneegk evlvcseavs picgsdgvty
				61 gnecllcayn veygtvskd hdgeckevap
				91 vdcrypnst seegkvglc skdispvct
				121 dwtydnecl lcarsleagt sigkkadgce
				151 kkeivavdcs dypkpvcsld ymplegsdnt

				181 tynnk ¹ cif ² cn avvdsngtis lshfgkc
serum albumin Gallus gallus(雞)	615	35	5.69	1 mkwvtlisfi flfssatsrn lqrfardaeh
				31 kseiahrynd lkeetfkava mitfaqlqr
				61 csyegl ¹ sklv kdvd ² laqkc vaneda ³ pecs
				91 kplpsiilde icqveklrds ygamad ⁴ ccsk
				121 adperne ⁵ cf1 sfkvsqpdfv qpyqrpasdv
				151 icqeyqdnrv sflghfiysv arrhpflyap
				181 ailsfavdfe halq ⁶ cc ⁷ kes dvgac ⁸ ldtke
				211 ivmrekakgv svkqy ⁹ fcgi lkqfgdrvfq
				241 arqliylsq ypkapfsevs kfvdhsigvh
				271 ke ¹⁰ cc ¹¹ egdmve cmddmar ¹² mms nlcs ¹³ qqdvfs
				301 gkik ¹⁴ d ¹⁵ ce ¹⁶ kep ivers ¹⁷ q ¹⁸ ime aefdekpadl
				331 pslvekyied kev ¹⁹ cks ²⁰ feag hda ²¹ maefvy
				361 eysrrhpefs iqlimriakg yeslle ²² ck ²³ ck
				391 tdn ²⁴ pa ²⁵ ecyan aqeqlnqhik etqdvvt ²⁶ kn ²⁷ c
				421 dllhdhgead flksiliry ²⁸ t kmpqvptdl
				451 lletgk ²⁹ mtt igt ³⁰ cc ³¹ qlpe dr ³² mac ³³ segy
				481 lsivihd ³⁴ ter kqettpindn vsq ³⁵ cc ³⁶ ss ³⁷ sy ³⁸ a
				501 nrr ³⁹ pe ⁴⁰ ftang vdtkyvppf npdmfsdek
				541 l ⁴¹ sapaeere vgqmkllinl ikrkpq ⁴² m ⁴³ tee
				571 qiktiadgft amvd ⁴⁴ ck ⁴⁵ qqs dint ⁴⁶ efgeeg
				601 anlivqsrat lgiga
serum albumin Columba livia(鴿子)	609	34	5.58	1 mkwvtlisfi flfsfaasrn lqrfargaeh
				31 kseiahrynd lkeetfkava mitfaqlqr
				61 c ⁴⁷ syegl ⁴⁸ sklv knvld ⁴⁹ laqac sanedg ⁵⁰ pkca
				91 nslpsiflde icq ⁵¹ veklrds ygamad ⁵² ccak
				121 adperne ⁵³ cf1 tfkvpqpdfv qpyqrp ⁵⁴ gadv
				151 ic ⁵⁵ keyqdnrv sllghfiy ⁵⁶ tv arrn ⁵⁷ pflyap
				181 tilala ⁵⁸ aye halqt ⁵⁹ cc ⁶⁰ kes dina ⁶¹ cldeka
				211 taikekak ⁶² kv svkqy ⁶³ acgv lnkfgert ⁶⁴ fq
				241 anl ⁶⁵ lallsqk ypkapfseiv kilrdik ⁶⁶ gty
				271 ke ⁶⁷ cc ⁶⁸ egdmve cmddra ⁶⁹ eiva yv ⁷⁰ csk ⁷¹ qdvfs
				301 skik ⁷² g ⁷³ ce ⁷⁴ kep ivers ⁷⁵ q ⁷⁶ ie aefddk ⁷⁷ pegl
				331 pslvekyiqd kei ⁷⁸ cks ⁷⁹ feag hdefl ⁸⁰ sefvy
				361 eyarrhpefs tqlilrvakg yetlle ⁸¹ ck ⁸² ck

					391 tdnpaecygn aqeelnkhik etqdvvtnc
					421 dlltthgepd flkailirytkkmpqvstdt
					451 lleigkkmta vgtkccqlpe dkrlpcsegy
					481 lsiviqdmer rqettpindn vshccsdsya
					501 yrrpcftamg vdtkyvpppf npdmfnfdek
					541 lffelgqmk lvnlikrkpl mteeqiktia
					571 agftamvdckqksdietcf geeganlivq
					601 sratlgiga
serum albumin					
Zonotrichia	565	35	6.19	1	mitfaqlqr csydglslkv kdvdlahkc
albicollis(白喉帶鴉)					
					31 vanedapecs kplpsvflde icqvdklrds
					61 ygdmadccgk adperncfl sfkvqhpdiv
					91 qpypaadv icneykdhv qlgnfyvtv
					121 arnpflhap ailglaeye nalkccses
					151 dvgacldaka avikerakki dvkqhgrri
					181 lekygertfq asklvmsqk ypkapfaelv
					201 klvhdvkvdy keccdgdmve cvddwselva
					241 smcskqdvfs sklkpccelp avertkime
					271 aefddkpdnl pslvekyiqd kevcksyea
					301 hdaflsefvy eysrrhpels tqvlmritkg
					331 yetlldkck tdnpaecygn aqeelnkhvk
					361 esedvvtnc elfnthgead flkgilvryt
					391 kkmpqvssset lleigkkmtg vgkccslpe
					421 qkrmscsehy lsiiiedmck rquestpineq
					451 vsqccnelys yrrpcftamg vdtkyvpppf
					481 dpsmfndek lctaapaere agqlkmlvnl
					511 ikrkpqmttee qiktigegft amnekckqa
					541 dveglgeeg aslivqsrai lgiga
collagen (I) Gallus					
gallus (雞)	1363	7	0.51	1	mlsfvdtril llavtsyla tsqhvseasa
					31 grkgprgdkg pqgerppgp pgrdgedgp
					61 gpppppppg lgnfaaqyd pskaadfgpg
					91 pmglmgprgp pgasppppp fgqgvpepg
					121 epqgtgpqgp rgppppgka gedghpgkpg
					151 rpgergvagp qgargfpgt glpgfkirg
					181 hngldgqkgq pgtpgtkgep gapgengtgp

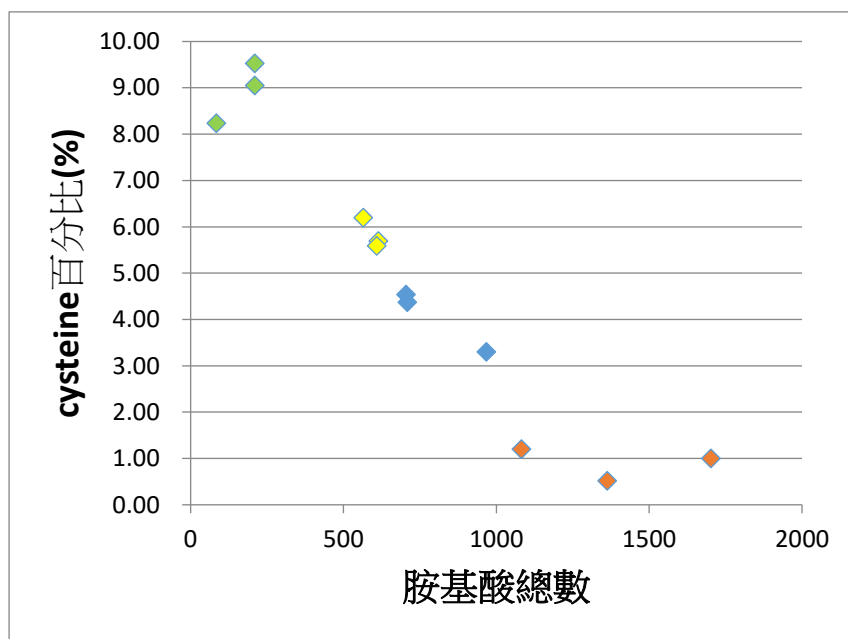
				211 qpgarglpge rgrigapga gargsdgsag
				241 ptgpapgiga agppgfpgap gakgeigpag
				271 nvghtgpap rgeiglpss gpvppgnpg
				301 anglpgakga aglpvavagap glpgrgipg
				331 ppgpagpsga rglvgeppa gakgesgnkg
				361 epgaagppgp pppsgeegkr gsngepgsag
				391 ppgpaglrgv pgsrglpgad gragvmgpag
				421 nrgasgpvga kgpndagr pgeplmgprg
				451 lpgqpspgp agkegvpvfp gadgrvdpig
				481 pagnrgepgn igfpgkgt gepgkgekg
				511 nvglagprga pgpegngaq gppvtgnqg
				541 akgetgpap pgfqlpmps gpageagkpg
				571 erghgefvg ppgprger glpgeavg
				601 pagpigrp sgppgdgnk gepnvgpag
				631 apgpagpgi pgergvagvp gkgekgpag
				661 lrgdtgatgr dgarglpai gappagag
				691 drgeggpag apgargip gergepgv
				721 psgfagppga agqpagker gpkpkgetg
				751 ptgaigiga sgpppvga gpagrgdag
				781 ppgmtfpga agrvgppga gitppppg
				811 pagkdgrgl rgdvpgvgrt geqgiagppg
				841 fagekpsge agaagppgt ppgilgap
				871 ilglpsrge rlpgiagat gepplgvsg
				901 ppgargpsg vspgngap geagrdnpg
				931 ndgpprdga pfgkergap gnpagsalg
				961 apgphqvvp sgkpnrgdp gpvpgpag
				991 afgprlagp qprgekgep gkghrglp
				1021 lkghnglql plagqhdq gppnngpag
				1051 prgpppsgp pgkdgrnglp gpigpagvrg
				1081 shgsqpagp pppppppp gpnggvev
				1111 fdaeyradq pslrpkdyev datlktlnq
				1141 ietlltpegs knpartcrd lrlshpewss
				1171 gfywidpnq ctadairayc dfatgetcih
				1201 aslediptkt wyvsknpkd khiwgetin
				1231 ggtqfeynge gvttkmatq lafmrlanh
				1261 asqnityhck nsiamdeet gnkkavilq
				1291 gsndvelrae gnsrftsvl vdgeskknk

				1321	wgkttiieyrt nkpsrlpild iapldiggad
				1351	qefglhigpv cfk
collagen(I) Columba livia (鸽子)	1083	13	1.20	1	mavalppgam dspvpslavl ghlcvtvmhg
				31	mvqlqletqg msglkgvmgf qgpvpegtd
				61	gvpglrgqlg qegpggfigl pgskgqtageq
				91	gcrpggsgsk dlgtkgdkgp cgaagaegpp
				121	girgqvgsqg fpgprgaagp rgpegqegqm
				151	glaglnnseg pkggrpdgp kgtpgprgar
				181	grvqrglvq dpglpglqgi pgaegaagkp
				211	gtqglpgttg nprrrppgf agsqgarght
				241	gppgsigspg kpsdgdpgs lgpklpgkp
				271	gleglqgpvg tygypglagd rgrprrgdgk
				301	gergaqgppg fpgkagpkal pgppgprgap
				331	gsqgragdpq prglpglpgv pgprglgvp
				361	gkpgsagemg apgvagaagl pgyppregpn
				391	gpegpsmrg ekgdtghpge agvsgldgeq
				421	gppppgaeg hpgpkgeqge agtcgagpvs
				451	gdpgepgddg pegppgrpge rgkegdtgda
				481	gdpgelppqg qkqgdtgprg lpgappgaa
				511	ageigekghk gekgqegllg qvgtgaags
				541	agargwfgvt glrgppghdg pegvkgdpgp
				571	rgmngpagaa gfeglagddg vkdsqgkpgl
				601	vgaagppgra gvpplqghtg hqgvrgvagg
				631	kgdpgqqpl gppgeagang psgtegmaga
				661	kgepgkpgkp gqmgspqag lkgwkgrkge
				691	kgdvregree gapgeagrrg krgrvghrpp
				721	rgprgpkgyp gdkgpegpqq pqglygipgl
				751	kgmkgdpgpk ghkgeksgg dpgqqgddgf
				781	kgkpgphgvp grpgpkqqg dsgrpgprgh
				811	pgipgtpgls gpkglkgfpg lpgpqgtpgl
				841	pglagspgpr gptvmlsgee lrhliyssh
				871	lnytavwall dtlsqelqal iehpngtktn
				901	paatckelll aplclppgqy yidpnqspq
				931	dalvafcnft aggetciapv hnqvpikawl
				961	stytskdtfe wfstlpggfl leyagaspat
				991	gparrsptpa drppsrasps prrksaswpi

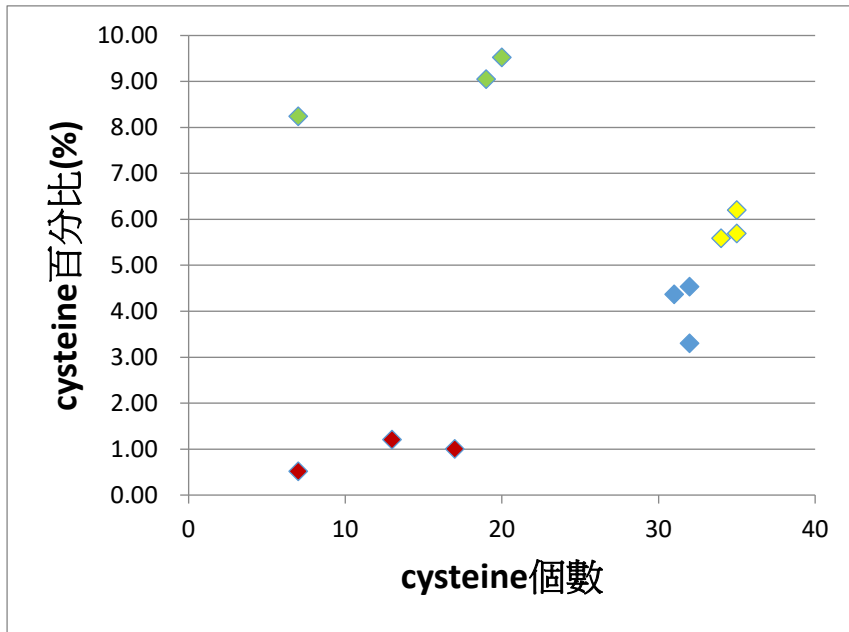
				1021 prsrampac raacwtmtps sptpsssar
				1051 rsspccpct wpssttapp tslvsqldqf
				1081 asa
collagen(I) Zonotrichia albicollis(白喉帶鴉)	1702	17	1.00	1 mptreafgdr fadelsvllk lryslkedts
				31 lvtilshrsr vlfqirvnpy alvfvtrrr
				61 hyefpvsflg dghwhqvals islerlelhv
				91 dcrldrvsw snhfgmgvnt egliaiggli
				121 esfeipfkg lqqltfvmgd paaaaechs
				151 ynstopgsfs lhrpwelpa awpvpketn
				181 eiqdsstqds rltssdlap ppwpwedtqg
				211 tlnlqpdgsa laslsaheip saeeeeeeeg
				241 slsiedegfe llnstynkit ppprpalrrt
				271 sgasikppra akkdhgsdqe enitteklsg
				301 dagtrrllps kfpkesppa hrqaapkgv
				311 pkgplkagag lggpkappga ghpglwvaqq
				361 gcvvkpgppg lpgppglpgc pgrrglvpgk
				391 gdkgyppgamg rmgppdpgp agtpgvpsiv
				421 lwrnsredwq sfmqssfyql lhagwrkpg
				451 apgppghpgk tgappcgap gepgdkqrg
				481 ypgeplqgl pgrvgypgsd gfpfldgkpg
				511 pwglpgeqgl qfgqdrsla gdkgeegflg
				541 dpgpagdke kvkvkgen glpgpaglqg
				571 lvglkgamgl qgpapged gsvgapgpag
				601 pmgepgqppg vgrgngsq gelppmag
				631 prgpkpql qrrpppr gsqpagleg
				661 ssgpkgtgt agapvrgql gqpggflg
				691 lpgakgtqge qgrppgak gdlgakgk
				721 prgaqakgp pgrgqglq gfpgrgaag
				751 prgpdgeeg iqpaglnsse gpkcagpdg
				781 pkgalgarga rgrvqrglv gvpplpsrg
				811 apgaegaegk pgtqppgiv gsprrrplg
				841 faglpgrgh agtpgisp gkppdgtg
				871 clgpkglpgk pglepqpqv gtygypgaag
				901 drgrlrrgd kergaqqpp gfpkgagpka
				931 lpgppprga pgsqgrtdp gprlplpg

				961 vpgtrgldgv sgkagagger gapgapgaag
				991 ppgypgqegp nregpagmr gdkgevtag
				1021 aagvrgldge qgppgppgae gqgpkgeqg
				1051 eagtrgapi rgspegpde gteppprpg
				1081 kqkkgdtgd tgdpegplr grkntgprg
				1111 ppgiagpaa tgetgkqk gekregllg
				1141 qgvtgaagp agargwfgt glqppgldg
				1171 pegekdpdp rgvdgpaga gfegqagddg
				1201 akdggkpgp vsgqargla gaplrgyag
				1231 hegargvlt kgpprgtll pppgeatg
				1261 lsgteglvga kpegpegkp gcmgapqag
				1291 pkgrkgckgd kdagqegdr gvpgearrg
				1321 krgkmgqpp rgpwghkyp gdklpgpqg
				1351 pqglyipgl kgikpegpk ghkgeksg
				1381 dlqqgddgf kgkpgphvp grpgkgrqg
				1411 dtgpppqg pgipgtpls gpkglrgfp
				1441 lpgprgtpm pgvagppgs gpavmlsee
				1471 lqhlyssnh lnytlvwal dtlsrelqal
				1501 vehpntkth pattckelll ahgpldgqy
				1531 yidpnqgspq dalrafcnft aggetciapv
				1561 qnqipikawl styssentfe wfstlpggfl
				1591 leyagasvq lrflrlhshr aaqqlsyscr
				1621 aaprrrrqp rteirflsds rghsysaslh
				1651 gclldnessi adtifqste elwllplrdl
				1681 avfhngdash qfgftvgpvc fs
serum albumin Bos taurus(牛)	607	35	5.77	1 mkwvtfisll llfssaysrg vfrrdthkse
				31 iahrfdlge ehfkglvlia fsqylqqcpf
				61 dehvklvnel tefaktvad eshagceksl
				91 htlfgedelck vaslretygd madcceqep
				121 ernecflshk ddspdlpklk dpntlcedf
				151 kadekkwgk ylyeiarrhp yfyapelly
				181 ankyngvfqe ccqaedkgac llpkietmre
				211 kvltssarqr lrcasiqkfg eralkawsva
				241 rlsqkfpkae fvevklvtd ltkvhkeech
				271 gdllccaddr adlakyicdn qdtisskike
				301 ccdkplleks hciaevekda ipenlppta

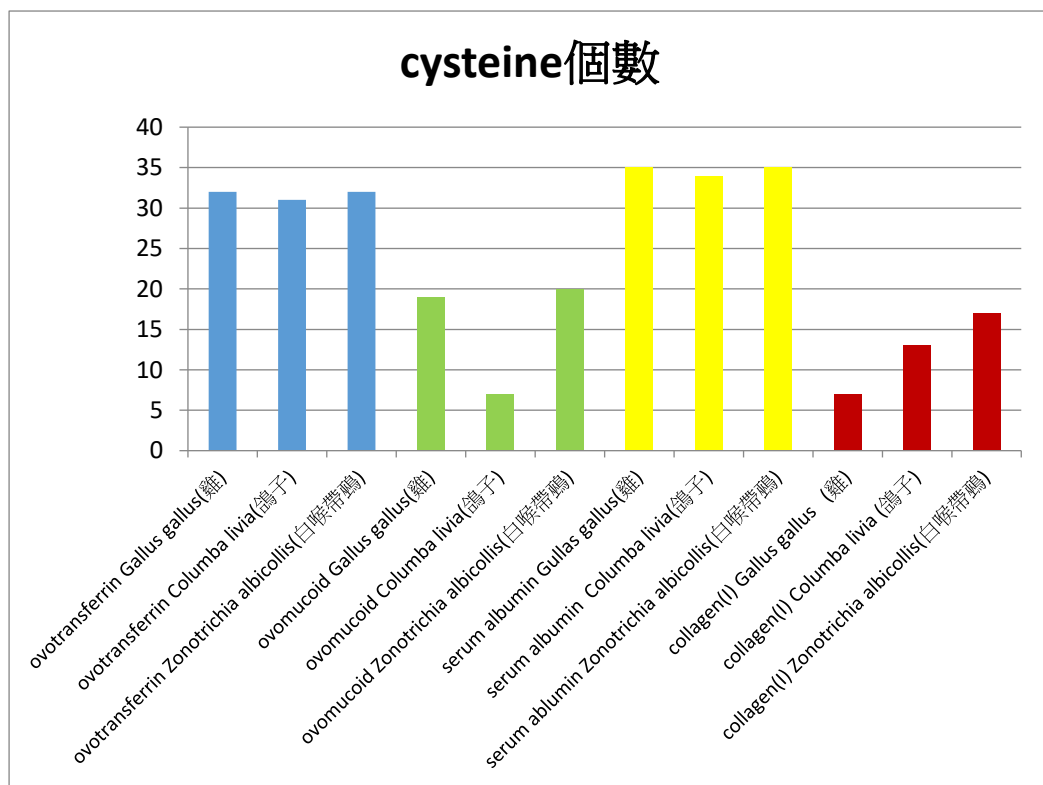
				311 dfaedkdvck nyqeadaf1 gsflveysrr
				361 hpeyavsvll rlakeyat1 eeccakddph
				391 acystvfdkl khlvdeqnl ikqndqfek
				421 lgeygfqnal ivrytrkvpq vstptlvevs
				451 rslgkvgrc ctkpesermp ctedylslil
				481 nrlcylhekt pvsekvtkcc teslvnrrpc
				511 fsaltpdety vpkafdeklf tfhadictlp
				541 dtekqikkqt alvellkhkp kateeqkktv
				571 menfvafvdk ccaaddkeac favegplvv
				601 stqtala



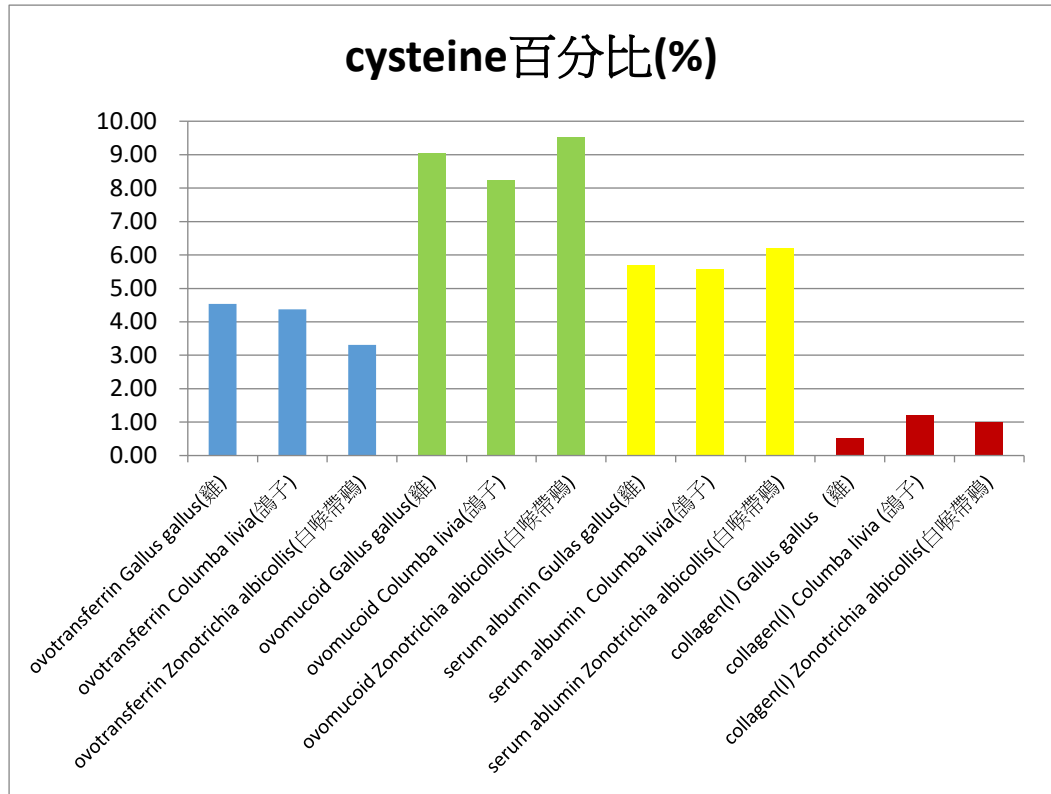
圖六:氨基酸總數及 cysteine 百分比(%)的關係圖



圖七: cysteine 個數及 cysteine 百分比(%) 的關係圖



圖八: 十二種蛋白質的 cysteine 個數



圖九：十二種蛋白質的 cysteine 百分比(%)

陸、 結論與討論

根據文獻，蛋白質是形成螢光金團簇最常用的保護分子，這些保護分子的共同相似點是：他們是大分子而且含有硫醇(Thiol)來進行隔離與滯留金離子，因此在還原過程中，金離子不會聚集成奈米顆粒，進而形成螢光金團簇。根據文獻已確定牛血清白蛋白(BSA)可用於合成螢光金團簇，我們選取容易取得且價格便宜的雞蛋，先進行蛋白分離，取得雞蛋蛋白中最主要的兩種蛋白質(卵轉鐵蛋白 ovotransferrin、卵類黏蛋白 ovomucoid)，經加熱實驗後發現皆會產生凝膠，推論是因為蛋白質分子具有較多的半胱胺酸(cysteine)，加熱過程分子間進而形成了雙硫鍵(s-s)。

在另一個實驗中已確定我們取得的雞蛋蛋白中最主要的兩種蛋白質(卵轉鐵蛋白 ovotransferrin、卵類黏蛋白 ovomucoid) 是形成螢光金團簇很好

的保護劑，若這兩種蛋白質經變性(共價鍵修飾)後喪失硫醇(Thiol)，就無法協助還原反應，也就喪失了當保護劑的能力，可見硫醇(Thiol)在保護劑中扮演了關鍵角色。

日常生活中，豬皮或豬腳熬煮過後的湯冷藏後會有膠狀物產生，但經加熱後又回復液態，為何跟雞蛋不同呢？經過分析，豬皮或豬腳中的膠原蛋白(collagen)的半胱胺酸(cysteine)佔蛋白質中胺基酸總數的比例相對的比雞蛋蛋白中最主要的兩種蛋白質少很多，其胺基酸也主要為水溶性的胺基酸，這兩項原因使得膠原蛋白幾乎沒有產生凝膠作用，也因此我們推論：膠原蛋白無法當合成螢光金團簇的保護劑，因為他缺少了還原作用最重要的半胱胺酸(cysteine)。

我們又想，既然牛血清白蛋白(BSA)及雞的卵轉鐵蛋白(ovotransferrin)和卵類黏蛋白(ovomucoid)皆可當合成螢光金團簇的保護劑，那其他動物的呢？於是進了NCBI搜尋了三種鳥類(雞 Gallus gallus、鴿子 Columba livia、白喉帶鴉 Zonotrichia albicollis)的四種蛋白質(卵轉鐵蛋白 ovotransferrin、卵類黏蛋白 ovomucoid、血清白蛋白 serum albumin、膠原蛋白(I) collagen(I))的胺基酸序列加以比較，發現同一種蛋白在不同動物身上雖然胺基酸總數不盡相同，但半胱胺酸(cysteine)的百分比卻十分接近，我們推論：不僅文獻中的牛血清白蛋白(BSA)及雞的卵轉鐵蛋白(ovotransferrin)和卵類黏蛋白(ovomucoid)可當合成螢光金團簇的保護劑，其他動物同樣的蛋白質也能達到相同的效果。

分析的資料中我們發現鴿子的卵類黏蛋白(ovomucoid)胺基酸總數相對小，但cysteine的比例卻和其他兩物種相差不大，會不會因分子量小而影響螢光金團簇的合成？

柒、 未來展望

將尚未分離的十種蛋白質分離並進行螢光金團簇合成的相關實驗，確

定半胱胺酸(cystetine)達一定比例即可當螢光金團簇的保護劑，以證實我們的推論。

捌、 參考資料

- 1 Yang, X.; Yang, M.; Pang, B; Vara, M.; Xia, Y. Chemical reviews 2015, 115,10410.
- 2.Qu, X.; Li, Y.; Li, L.; Wang, Y.; Liang, J. Journal of Nanomaterials 2015,2015,4.
- 3.Liu, C. L.; Wu, H. T.; Hsiao, Y. H.; Lai, C. W.; Shih, C.;Peng, Y. K.; Tang, K. C.; Chang, H. W.; Chien, Y. C.; Hsiao, J. K. Angewandte Chemie International Edition 2011,50,7056
- 4.Kawasaki, H.; Hamaguchi, K.;Osaka, I.; Arakawa. R. Advanced Functional Msterials 2011,21,3508
- 5.Separation of egg-white protein for the synthesis of fluorescent gold nanoclusters
- 6.<http://highscope.ch.ntu.edu.tw/wordpress/?p=46532>
- 7.https://tw.answers.yahoo.com/question/index?qid=20080827000010KK00669&guccounter=1&guce_referrer=aHR0cHM6Ly93d3cuZ29vZ2xlLmNvbS8&guce_referrer_sig=AQAAABQniuvdGnVagsa-pbLR9vudmvrIJ-JnKFJLQP2FPGOkTqrbSIMEbUp5DJWryHQvi8pUTN3kSaG2P5G - UGIroBUUCOOxbYwKzIfShCPqsq1IH6vXpiQaF8PoTcGV8WgnVJJPIhfGBWSpnAJWUw1x3IFuaG8MVBCGzEB2Y_ZD5Qv
- 8.<http://juang.bst.ntu.edu.tw/Protein/Analysis/A3.htm>
9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>