

## 農業部花蓮區農業改良場

### 113 年度「山胡椒雌雄株分子辨別技術」委託專業服務案

#### 需求說明書

##### 壹、服務需求說明：

山胡椒為雌雄異株，種植 2-3 年後才可生產果實，如能於苗期以分子技術辨別公母株，則可先行移除多餘的公株，提高整體生產效率及產量。農業部花蓮區農業改良場(以下簡稱本場)擬委外進行山胡椒雌雄株分子辨別技術，以利部落產業發展。

##### 貳、預定期程：自簽約日起至民國 113 年 11 月 10 日前完成。

##### 參、服務需求及工作項目：

1. 開發分子鑑定標誌:以操作簡便、分析量大的 RAPD (random amplified polymorphic DNA) marker 進行，RAPD 分析以 10 個隨機鹼基引子(primer)進行 PCR 擴增，可以直接膠體電泳獲得 DNA 差異片段，無須限制酶切割或放射性同位素標定。
2. 核酸萃取:核酸萃取將以 Favorgen Plant Genomic DNA Mini Kit 或同等級 Kit 進行少量萃取。聚合酶連鎖反應擴增:序列擴增使用 Platinum™ Taq DNA Polymerase High Fidelity 或同等級酵素進行。
3. 差異片段選殖:將 DNA 差異片段由膠體切下，經 GEL Purification Kit 純化後接入 TA cloning plasmid (pGEM®-T Vector)或同等級 Kit，再送入勝任細胞 (Competent Cells)表現。
4. 定序與序列分析:經培養基藍白篩(Blue-white screening)與 Colony PCR 篩選，得到正確表達的細胞株即可送定序。
5. 分子標誌設計:定序後的 DNA 序列經分析比對找出差異核酸序列，即可設計出偵測山胡椒性別之特殊分子標誌。
6. 分子標誌應用:所設計的山胡椒性別分子標誌須經不同山胡椒單株的測試至少 20 株。

肆、計畫預估經費及付款方式：

一、計畫預估經費：總金額為新臺幣 80 萬元。

二、付款方式：契約分 3 期付款，各期之付款條件如下：

- (一)第 1 期：自決標日起 20 日曆天內交付工作計畫書，經機關確認無誤後撥付總金額 30%。
- (二)第 2 期：廠商於 113 年 7 月 10 日以前繳交期中報告書及期中簡報，完成其中審查作業並通過期中審查標準，撥付總金額 40%。
- (三)第 3 期：廠商於 113 年 11 月 10 日以前繳交期末報告書及期末簡報，經審查通過，依機關修正意見修改完竣，並繳交修正完成之研究報告書，撥付總金額 30%。

伍、工作成果要求：

一、受託廠商於工作執行期間，須依雙方契約之規定提送各項報告初稿，並舉行期中、期末計畫審查。

二、提送本計畫成果如後：

- (一)期中、期末報告及結案報告各 5 冊
- (二)成果光碟 5 份：光碟內各項報告之文字檔(分別以.doc 及.pdf 格式儲存)、簡報檔及所蒐集文獻及參考資料。
- (三)期中、期末報告簡報檔(以 PowerPoint 檔製作)

三、期中及期末審查標準：

- (一)期中審查標準：繳交期中報告書及期中簡報，配合現場報告。

內容包括：

**查核點 1:開發分子鑑定標誌**

A.挑選山胡椒性別分子標誌之序列，並購買符合預期區域的 RAPD (random amplified polymorphic DNA) marker 進行，進行篩選有特異性的片段。

B.進行山胡椒植株核酸萃取與 PCR 擴增，並跑膠挑選出差異片段進行純化。

- (二)期末審查標準：繳交期末報告書及期末簡報，配合現場報告。

內容包括：

**查核點 2:分子標誌設計與驗證**

A. 利用藍白篩選技術，進行基因選殖有特異性的差異片段。挑選出正確表達的細胞株。

B.將細胞株進行定序與序列分析

C.利用取得山胡椒序列經分析比對找出差異核酸序列，並設計出對應的引子對

D.取得花蓮原鄉山胡椒種原至少 20 株，進行山胡椒性別分子標誌驗證，其正確率需有 80%。

#### 陸、企劃書製作規定：

##### 一、企劃書內容應包括下列項目：

1. 計畫目標及文獻評述。
2. 預期成果、評估指標。
3. 重要工作項目及執行程序。
4. 預定進度、經費分配及預算明細。
5. 研究人員說明；主持人過去 3 年內執行本場或其他機關委託之研究計畫成果及應用情形。

##### 二、企劃書裝訂方式：

1. 企劃書以A4尺寸紙張製作，直式橫書裝釘成冊，圖形表格得以A3紙張繪製，但仍須折成A4大小裝釘。
2. 企劃書應編目錄，頁次需明確並加封面裝訂成冊。
3. 企劃書請印製一式8份（含電子檔，需燒錄於光碟1份），份數不足而影響評審結果，廠商自行負責。

##### 三、廠商撰寫及提送企劃書等一切費用由廠商自行負擔。

##### 四、投標廠商不依本機關之規定及需求製作企劃書時，評審委員亦得視其情形，給予相對較低之分數。

##### 五、投標廠商於企劃書所提及之計畫主持人，以就職於投標廠商者為限。

##### 六、投標廠商於企劃書中引用相關書籍資料，應加註引用書籍名稱。若投標廠商於企劃書中引用相關書籍資料而未予以登載，且企劃書內容與其他廠商有雷同之處，評審委員得視抄襲之情形，予以相對較低之分數，或直接將其列入不入選廠商中。

##### 七、廠商對本專案若有其他具建設性且適當之建議，得於企劃書中加以述明。

##### 八、本案所完成之各相關文件，著作權歸機關所有。

##### 九、投標廠商之投標文件或承攬廠商之服務成果，如有侵害他人智慧財產權及第三人合法權益時，由廠商自負一切法律責任。

柒、本案聯絡人：邱晨助理研究員

電話：03-8521108 分機 3400