

行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中進度報告

高中生物技術種子教師培養：以線蟲生物模式提升生物科技 之素養(含學生競賽活動)(1/2)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC93-2515-S-002-008-

執行期間：93 年 10 月 01 日至 94 年 09 月 30 日

執行單位：國立臺灣大學生命科學系

計畫主持人：何國傑

共同主持人：謝豐舟，李心予

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 94 年 7 月 28 日

國科會科教處九十三年度「大眾科學教育」研究計畫成果報告

計畫題目

高中生物技術種子教師培養:以線蟲生物模式提升生物科技之素養

計畫主持人

國立台灣大學 生命科學系 何國傑

共同主持人

國立台灣大學 醫學系 謝豐舟
國立台灣大學 生命科學系 李心予

摘要

本計畫之目的，在於提升目前國內高中生物老師對現代生物學，尤其是生物技術進展之認知，並藉對線蟲生物模式之認識、研習以及實驗，培養高中生物種子教師，將線蟲實驗應用於生物教學與實習以培養基本生物科技素養。計畫實行將國內重點高中分為北、中、南等三區分為三個梯次，由國立台灣大學生命科學系提供空間、人員以及實驗材料，以線蟲為實驗材料，以兩天之時間使與會學員參與實驗之操作，以了解這種現代生物學中佔重要角色之模式生物之生活史、生理與遺傳，並期望與會學員能將這種簡易但重要之模式生物之操作，適切融入高中生物課程與教學之中，以達到提升國內高中生物科技教育水準之目的，使生物科技向下紮根。

Abstract

The purpose of this proposal is attempted to improve the modern biological knowledge for high school biology teacher in Taiwan. Training classes are designed to provide basic and practical knowledge about *C. elegans*, an easy to handle nematode species, to selected high school biology teachers of Taiwan. We offered three separated two-day classes for high school biology teachers from Northern, Central, Southern and Eastern part of Taiwan. Class materials, space for the training and tutors will be offered by the Department of Life Science, National Taiwan University. The participants will discuss the life cycles, physiology and genetics of *C. elegans*. In the mean time, the participants will obtain basic handling skills for this model system, and also some molecular biology training as well by using this species. In the first year of the proposal, we will hold a proposal contest for the participants for how to integrate *C. elegans* into the current high school biology education. In the second year, a *C. elegans* experimental contest for high school students will be hosted by the Department of Life Science, NTU.

計畫背景、理念及重要性

高中生物教師具備基本生物科技素養之重要性

大專以下的中、小學教育，有關生物技術的教育內容非常缺乏，而且約百分之九十的生物科教師在師資培育的階段，皆未修習生物技術相關課程。然而教育部於1995年10月發布的「高級中學課程標準」之生物科課程標準中，高二的「生命科學」第八章「生命科學和人生」，整章敘述生物技術的概況；高三「生物學」的重點目標，亦強調以分子與細胞的層次探討生命現象，有關分子生物及生物技術的部份，約佔內容的20%，可見中學生物教師有關生物技術的再教育已經刻不容緩。因此，本計畫之重點是針對我國高中之生物科教師，推動生物技術新知之在職進修教育，以密集課程及確實的實驗操作，提昇我國生物教師現代生物技術之素養，以造就我國下一代生物科技人材。本計畫之最終目的，乃在於培育生物技術高(大學)、中(專校)級種子師資，以提昇我國生物教師現代生物技術之素養，以期能達到生物技術知識經驗共享、轉移及紮根作用。教材內容涵蓋各項新生物技術之原理、操作及應用，將提供全國各校作為教學之重要參考，以提高教學成效，普及國內之生物技術教學。

線蟲生物模式的特性及對培養生物科技素養之重要性

線蟲與果蠅以及斑馬魚被並列為胚胎發生學的最佳模式動物。它的構造簡單，全身透明，生長快速，可大量養殖，易於產生突變，都是它平易近人的特質；此外，它的細胞數目及細胞命運圖譜(cell fate map)幾乎固定，並且易於追蹤，更使得線蟲成為研究細胞分裂與分化調控的重要模式動物。1998年，John E. Sulston等人完成線蟲的基因定序，成為第一個完成基因體定序的多細胞動物，也因此獲得了研究線蟲更有利的工具，使得線蟲的相關研究突飛猛進。由於牠全身透明，在高倍顯微鏡下，每個細胞都一覽無遺，對高中學生的實驗操作及觀察而言並不困難。此外，由於其基因簡易以及易於觀察之特性，線蟲已成為生物學界極為熱門之研究對象。包括國內之研究團隊在內，許多重要生理現象均藉由線蟲而被發現，以本系吳益群副教授為例，即利用線蟲之計畫性死亡為方向，發現極重要之訊息傳遞介質，並發表於多項國際知名期刊之中，為複雜的人類生理現象提供了研究的指標。因此，對這種模式動物的了解，成為對現代生物學教材編列之重要內容。

線蟲生物模式在高中生物教學方面之意義以及優勢

多年來國內高中生物課程皆以果蠅作為遺傳學的實驗材料，以驗證古典遺傳學中的孟德爾遺傳法則。果蠅雖然也是模式生物，但培養較費時費力，且線蟲在實驗上更具有下列優勢：

- (1)構造簡單，各發育階段皆可用解剖顯微鏡來區別
- (2)繁殖速度快，生命週期約3天，可在短時間內培養大量個體來進行遺傳分析
- (3)自由生活，以細菌為食，無寄生性，用簡單的細菌培養基即可培養
- (4)可以冷凍，保存相當方便
- (5)雌雄同體，自體受精，提高了遺傳實驗和突變株品系維持的便利性；亦可用雄性進行異體受精，進行遺傳分析

(6)從卵、胚胎、幼蟲到成蟲皆透明，利用相位差顯微鏡可以清楚看見所有細胞

基於以上幾點，線蟲不失為現代生物技術訓練之極佳教材。

生物教師研習線蟲生物模式之利基

如前所述，線蟲為一培養簡易且亦於操作之模式動物，以線蟲作為高中遺傳學課程的實驗材料所需要的背景知識，在現行課程大綱中皆有敘及。此外，線蟲目前於新加坡已成為高中生物實驗之教材：http://www.biomed-singapore.com/bms/sg/en_uk/index/research_resources/research_highlights/2003/worm_starter_kit_launched.html），廣泛推動並成效良好。因此，本計畫預計建立高中生物之種子教師教導學生認識線蟲的形態構造、生活與生殖、發育、培養等知識，並輔以現代生物學之現代生物學操作技術於課程內容，以期使學員深入了解線蟲，並期望將來使其納入高中生物實驗教材之中，以填補高中教育生物技術內容不足之缺憾。

線蟲計畫之專屬教學網頁

線蟲計畫已成立一個專屬網頁，提供高中老師報名、得知最新消息以及資訊交流的場所。本活動網頁網址為：<http://magicfx.m3.ntu.edu.tw/nemato/link5.html>。網頁的更新與維護聘請專門學生負責之，以促進本活動之資訊交流順暢。

計畫內容

本計畫分為二階段，**首階段**(計畫第一年)將國內之各學區重點高中依地域性分為三梯次，每梯次大約五十人次，於週休二日時間於台灣大學生命科學系之三樓以及四樓教室以及實驗室進行兩日之密集課程，以建立重點學校種子教師之建立。於**第二階段**(計畫第二年)預計進行種子教師推動之學生線蟲研究競賽計畫，以落實提升高中生物科技教學之目的。九十三年度實行的是本計劃之第一階段內容。

線蟲計畫教材內容：

線蟲計畫的教材內容擬定邀請國內對於線蟲生理學有專精之專家學者共同擬定。主要目的在於讓高中老師能夠了解線蟲生理，並且了解現代生物學對於利用線蟲作為模式生物之科學應用之重要性。其內容必須淺顯易懂、深入淺出。本教材提供本活動各梯次前來參加之高中老師授課之教材，其中也包含基礎的實驗原理及方法，有助於讓高中生物老師思考如何將線蟲推廣至高級中學之教育。以下是本活動教學之教材內容：

主辦者的話

本系很榮幸能夠承辦國科會科教處所委託之「高中生物技術種子教師培養計畫」活動，感謝過程中國科會科教處林福來處長的支持與醫學院謝豐舟教授之鼎力相助。歡迎所有高中教師蒞臨台灣大學生命科學系，期待這次的研習活動，能夠讓與會人員，深刻的學習到線蟲的相關知識與操作方法，並將其推廣至我們的高中生物教育之中。也希望透過台灣大學的推廣，讓大學的科學研究能夠與高中生物教育接軌，為台灣的生物科技發展，奠定穩健的基礎。

國立台灣大學生命科學系代系主任

現代發育學的拓荒者

線蟲模式生物的研究

模式生物

脊椎動物	青蛙 老鼠 斑馬魚
無脊椎動物	果蠅 線蟲
植物	阿拉伯芥



A Nobel Prize for Worms!

Press Release: The 2002 Nobel Prize in Physiology or Medicine
7 October 2002

The Nobel Assembly at Karolinska Institute
has today decided to award The Nobel Prize in Physiology or Medicine for 2002 jointly to

Sydney Brenner, H. Robert Horvitz and John E. Sulston
for their discoveries concerning
"genetic regulation of organ development and programmed cell death"

<http://www.nobel.se/medicine/laureates/2002/index.html>

Sydney Brenner



Sydney Brenner (b 1927), Berkeley, CA, USA, established *C. elegans* as a novel experimental model organism.

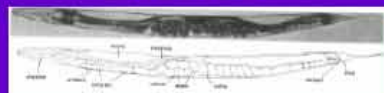
This provided a unique opportunity to link genetic analysis to cell division, differentiation and organ development – and to follow these processes under the microscope. Brenner's discoveries, carried out in Cambridge, UK, laid the foundation for this year's Prize.

Excerpts from Sydney Brenner's Proposal to the Medical Research Council in 1963

We should like to attack the problem of cellular development in a similar fashion, choosing the simplest possible differentiated organism and subjecting it to the analytical methods of microbial genetics.

- Thus we want a multicellular organism which has a
- short life cycle (can be easily cultivated)
 - small enough (can be handled in large numbers, like a micro-organism.)
 - having relatively few cells (can be exhaustively studied for lineage and patterns)
 - amenable to genetic analysis.

為什麼選擇線蟲？

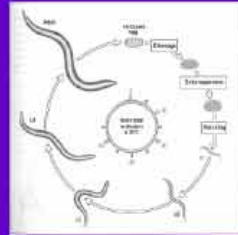


1. 構造簡單 (基因與細胞數量小)
2. 繁殖速度快
3. 容易培養
4. 可以低溫冷凍儲存
5. 全身透明
6. 演化保守性

Caenorhabditis elegans



C. elegans 的生活週期



John Sulston

John Sulston (b 1942), Cambridge, England, mapped a cell lineage where every cell division and differentiation could be followed in the development of a tissue in *C. elegans*.

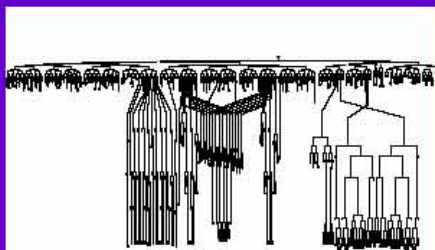
He showed that specific cells undergo programmed cell death as an integral part of the normal differentiation process, and he identified the first mutation of a gene participating in the cell death process.



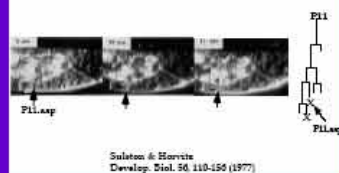
細胞分裂與細胞死亡可在活體觀察、追蹤



線蟲的細胞溯源圖



計畫性細胞死亡在線蟲的研究 可達到單一細胞的解析程度



Sulston & Horvitz
Develop. Biol. 56: 110-156 (1977)

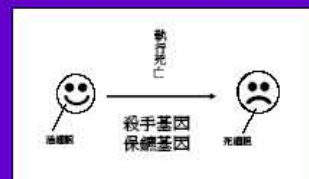
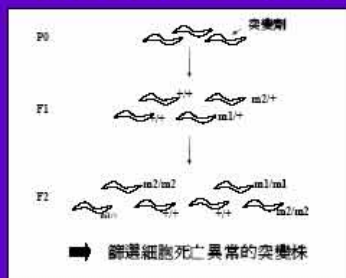
Robert Horvitz



Robert Horvitz (b 1947), Cambridge, MA, USA, has discovered and characterized key genes controlling cell death in *C. elegans*. He has shown how these genes interact with each other in the cell death process and that corresponding genes exist in humans.

如何研究細胞凋亡的分子機制？

利用突變劑處理線蟲並篩選突變株

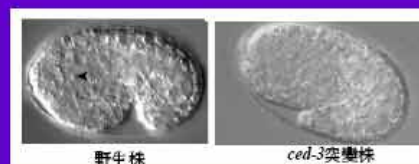


*ced-9*突變株有過多的細胞屍體



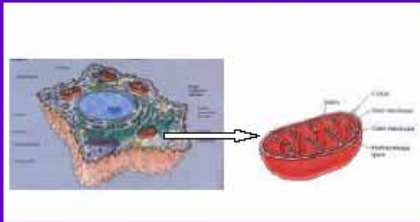
*ced-9*突變株中不該死的細胞凋亡
→ *ced-9*為保護基因

*ced-3*突變株沒有細胞屍體



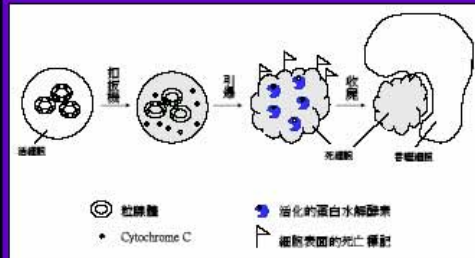
*ced-3*突變株中該凋亡的細胞不死
→ *ced-3*為殺手基因

粒腺體在計畫性細胞死亡中扮演重要角色



Coppey G.M. The Cell (1996)

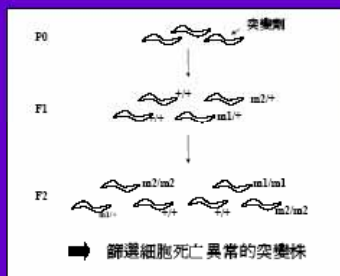
細胞死亡的過程



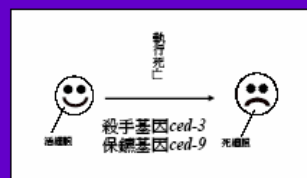
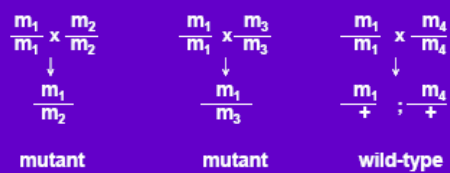
Forward Genetics

突變性狀=>基因(功能)

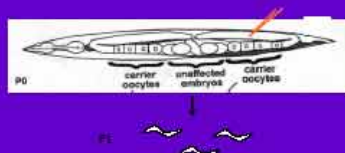
利用突變劑處理線蟲並篩選突變株



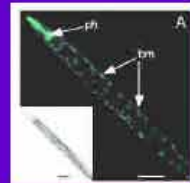
Complementation test



微量注射 DNA到成蟲的生殖腺



表現CFP的轉殖線蟲



Science, 295, 2456-2459 (2002)

Reverse Genetics

基因=>突變性狀

C. elegans 基因體已被完全決定



~97 Mb
~19,000 genes

Science, 282, cover, 1998

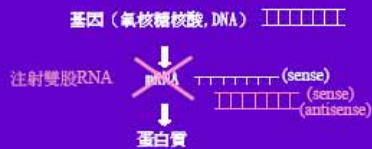
The *C. elegans* Sequencing Consortium



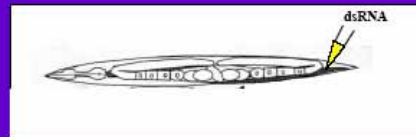
Antisense RNA技術



核糖核酸干擾技術(RNA interference)

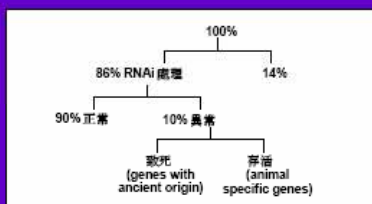


核糖核酸干擾技術可以越過細胞隔閡進行作用



Fire et al, Nature, 806 in 1998

線蟲基因體 RNAi的結果



Kamath, R. V. et al. Systematic functional analysis of the *Caenorhabditis elegans* genome using RNAi. 421, 231-237 (2003)

Reverse and Forward Genetics

突變性狀=>基因(功能)

基因=>突變性狀

相關網站

1. Wormbase: <http://www.wormbase.org/>
2. Worm literature: <http://elegans.swmed.edu/>
3. *C. elegans* genetic center:
<http://biosci.umn.edu/CGC/CGChomepage.htm>
4. Nobel prize for worms
<http://www.nobel.se/medicine/laureates/2002/index.html>

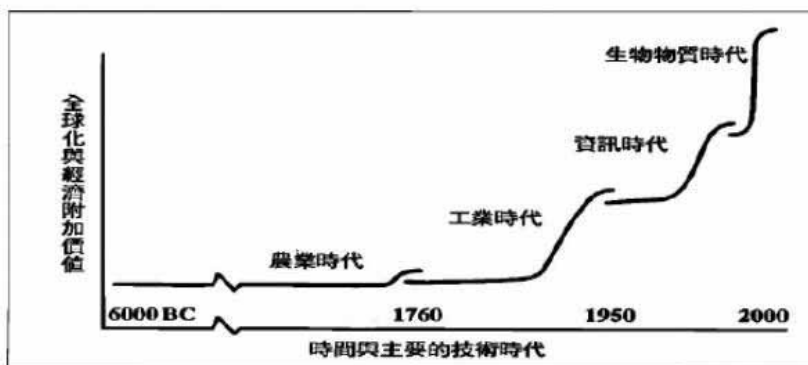
從線蟲研究到生物科技

李心予

台灣大學生命科學系 助理教授

人類產業歷史的變革

圖1-3 科技創造經濟時代

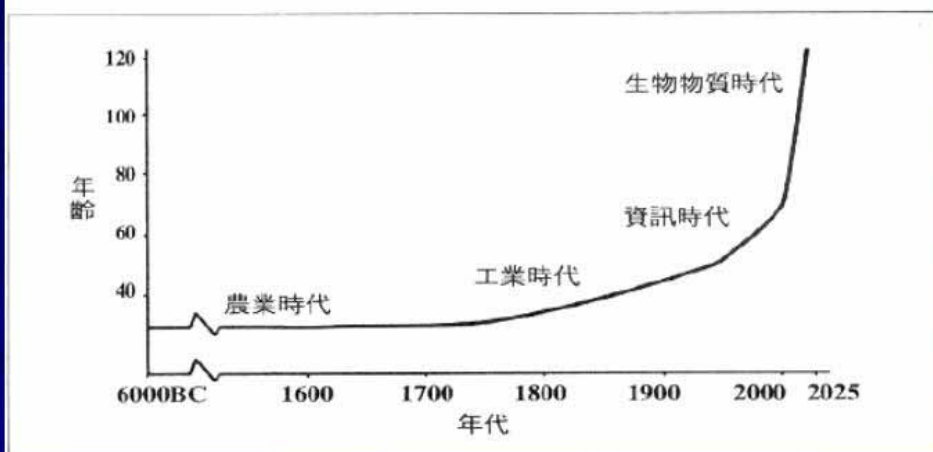


資料來源：CSX 指標

備註：本圖取材自本書作者理查·奧利佛所著《預約二〇五〇年》，麥格羅·希爾出版，1999年。

人類平均壽命的改變

圖6-2 西元前6000年至西元2025年全球人類的平均壽命預期值估計



重大生醫貢獻與科技

- 感染性疾病的控制
 - 顯微鏡的發明和微生物的發現
 - 盤尼西林和其他抗生素的發明
 - 重大傳染病的消滅
- 其他醫療科技成果
 - 移植科技
 - 人工器官
- 生命科學與生殖科技
 - 試管嬰兒
 - 人類及物種基因解碼
 - 複製生命



什麼是生物科技？

- 利用生物科學技術，以改變生物程序、生物細胞功能，或利用生物特性、成份或代謝產物來製造產品及改善人類生活品質的技術。

Biotechnology 定義:

『利用生物程序、生物細胞或其代謝物質來製造產品及改進人類生活素質的科學技術』

Biotechnology- A New Link To Hope 2003-2004, BIO(Biotechnology Industry Organization) 2003

傳統生物技術(發酵)

現代生物技術(基因工程)

新興生物技術(高科技與生命科學之整合應用)

生物防護(國防應用)

Biosafety

環境保護

Environmental Applications

工業

Industrial Applications 醫療保健

Health-Care Applications

食品

Food Biotechnology

農業

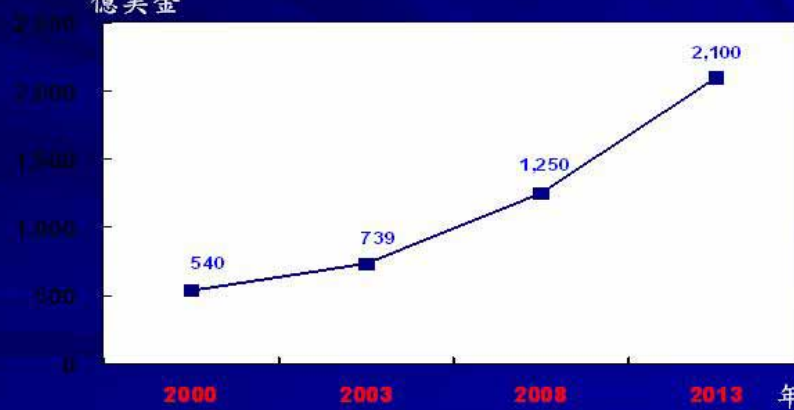
Agricultural Applications

生物科技主要範疇

- 醫療及製藥工程—新藥開發、原料藥/中間體製造、基因治療
- 農業—生物性農產品、基因改造食品、動物性疫苗
- 食品工業—機能性食品、食物添加劑、健康食品
- 特用化學工程—生物高分子、生物性界面活化劑、香料、色素
- 環保工程及生態保育—廢棄物/污染物處理、環境監控系統
- 生物晶片及其他基因資訊學

生技產業發展的趨勢

- 生技產業仍持續在成長
- 2. 2000~2013年生技產業的市場年複合成長率為11%

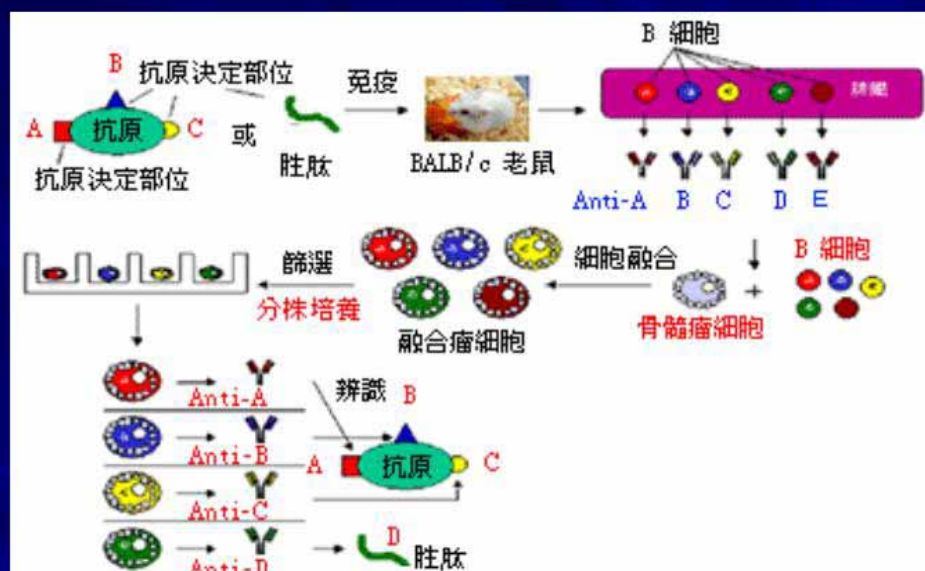
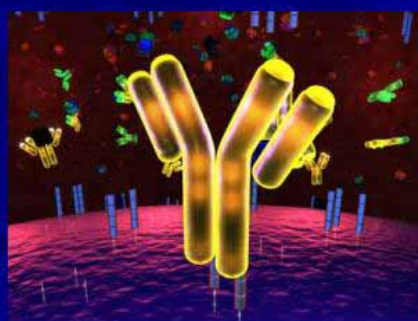


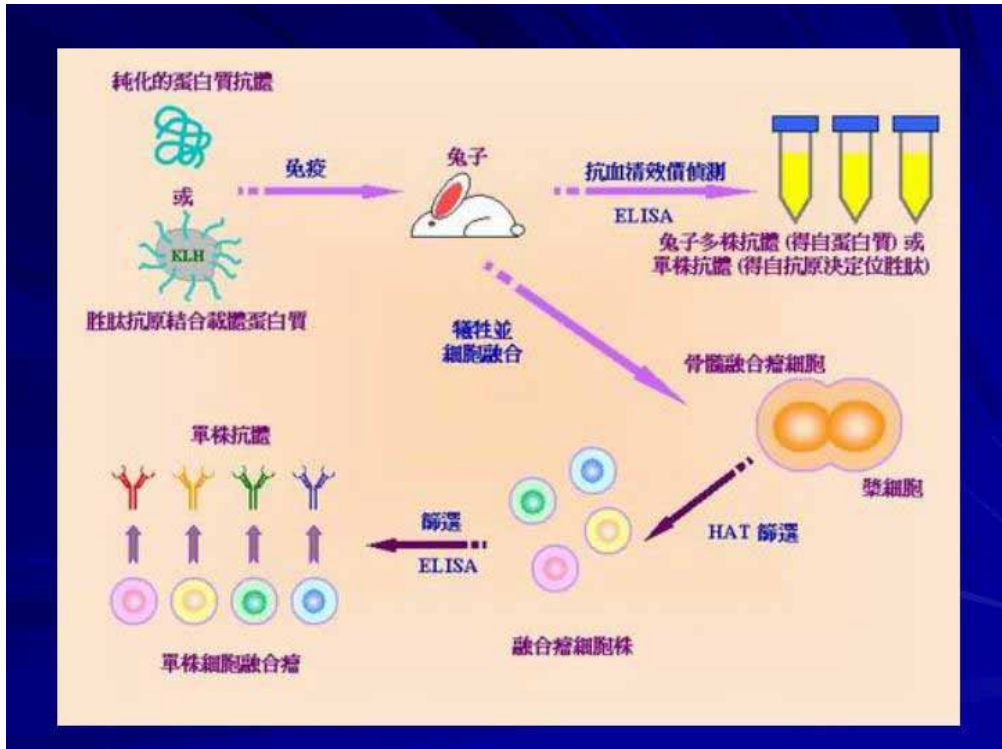
資料來源：OECD與Consulting Resources Corp., 2003

生物科技的主要內容

- 單株抗體(**Monoclonal antibody**)技術
- •細胞培養(**Cell culture**)技術
- •複製(**Cloning**)科技
 - 分子(**Molecular**)複製技術, 細胞(**Cellular**)複製技術, 動物(**Animal**)複製技術
- •基因改造(**Genetic modification**)技術
- •蛋白質工程(**Protein engineering**)技術
- •分子生物(**Molecular biology**)與雜交(**Hybrid**)技術
- •遺傳核酸晶片(**DNA Chip**)
- •生物資訊(**Bioinformatics**)技術

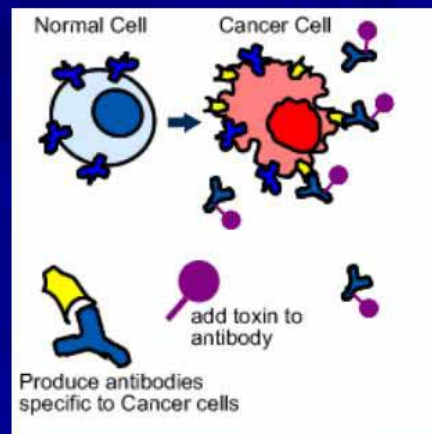
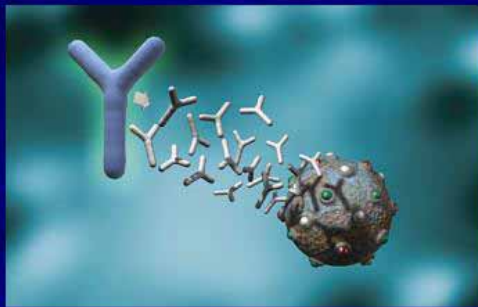
單株抗體 (monoclonal antibody)





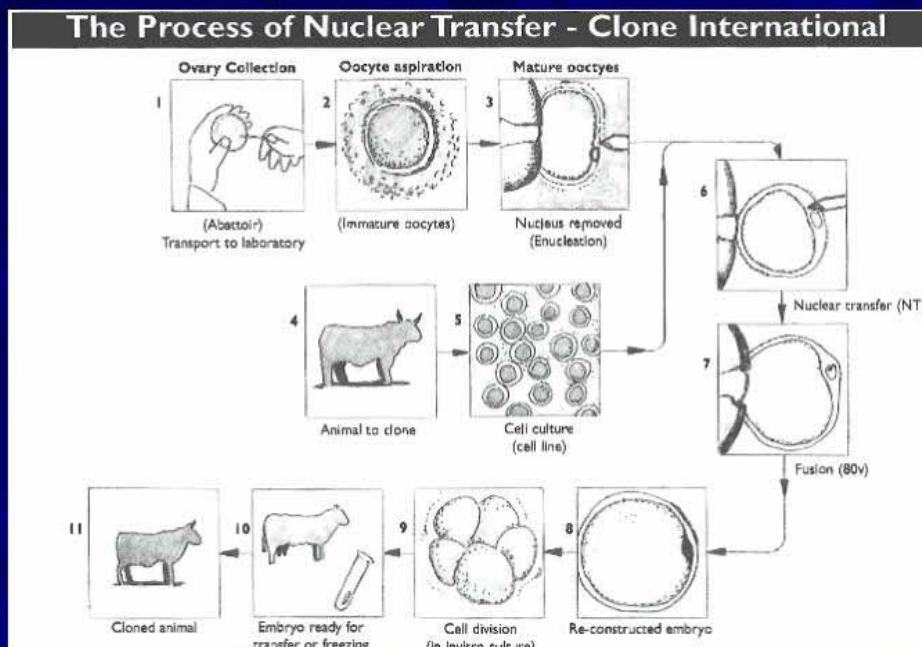
應用

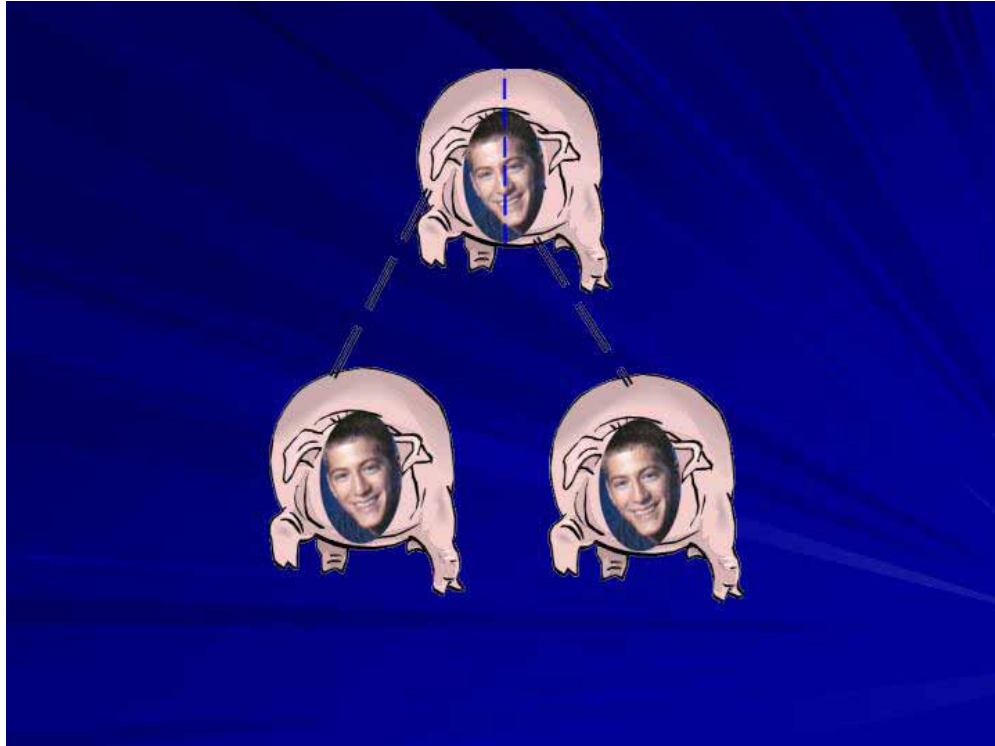
- 生物研究
- **Magic bullet**





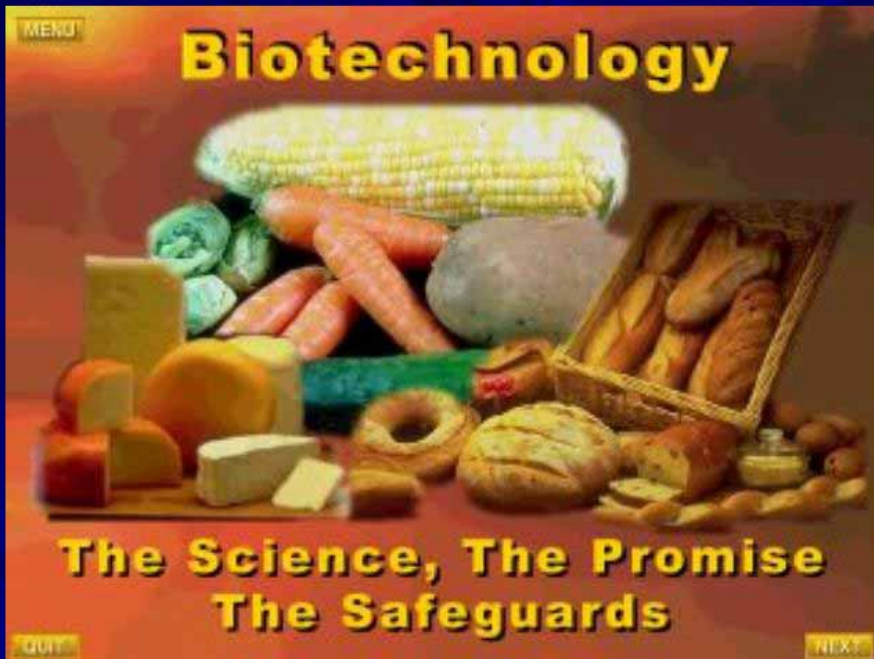
動物複製 (animal cloning)





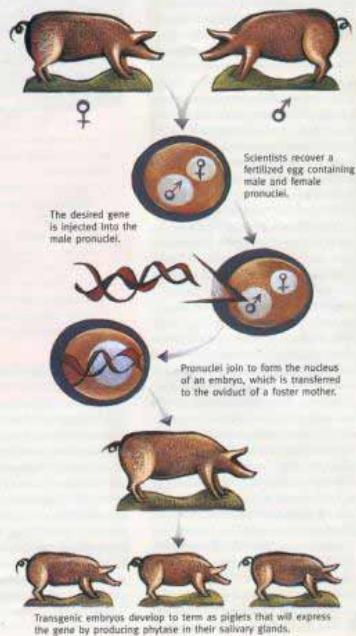


基因改造 (genetic modification)



Producing Enviropigs

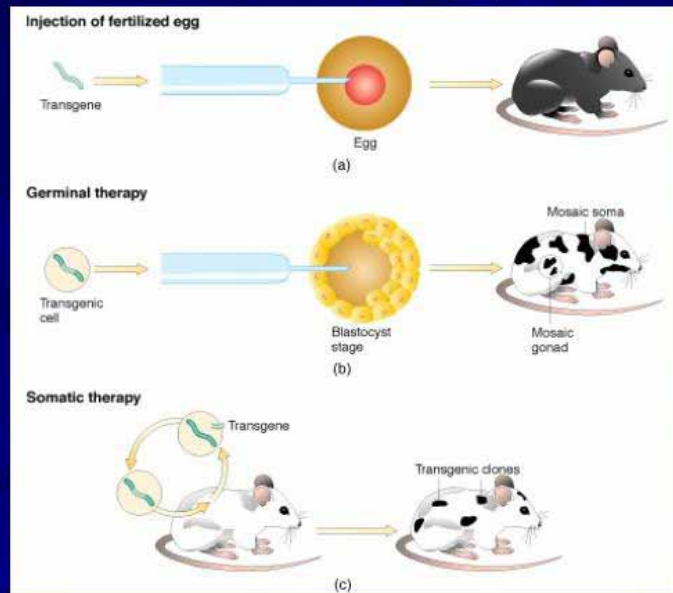
Researchers borrow a gene from *E.coli* bacterium that produces a phytase enzyme, inject it into a fertilized egg, and rely on the animal's normal reproductive system to deliver transgenic pigs.



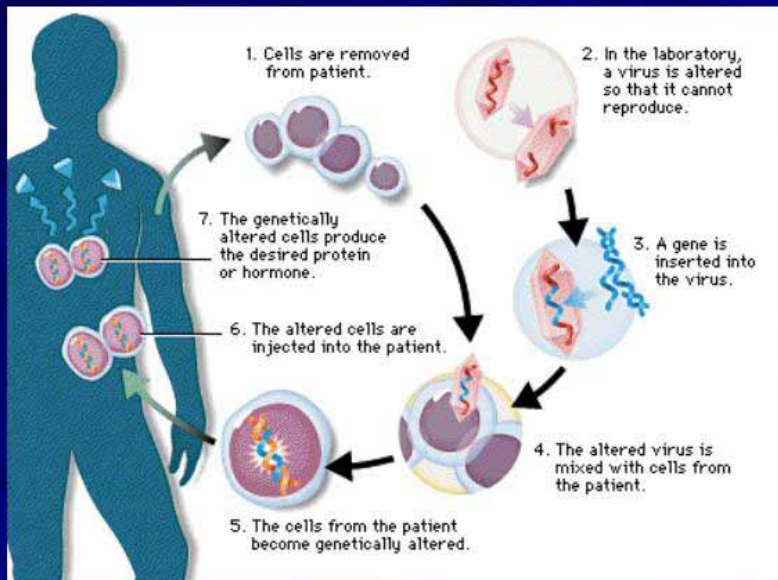
GMO



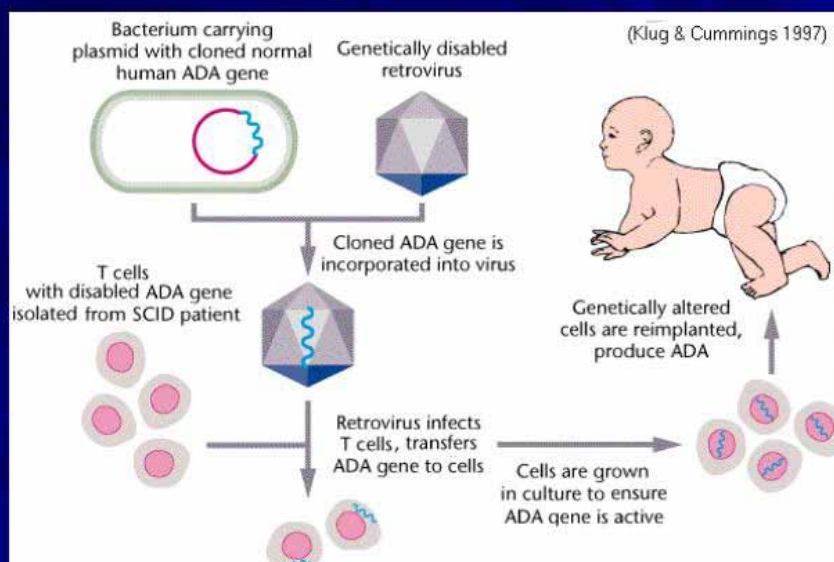
Gene therapy



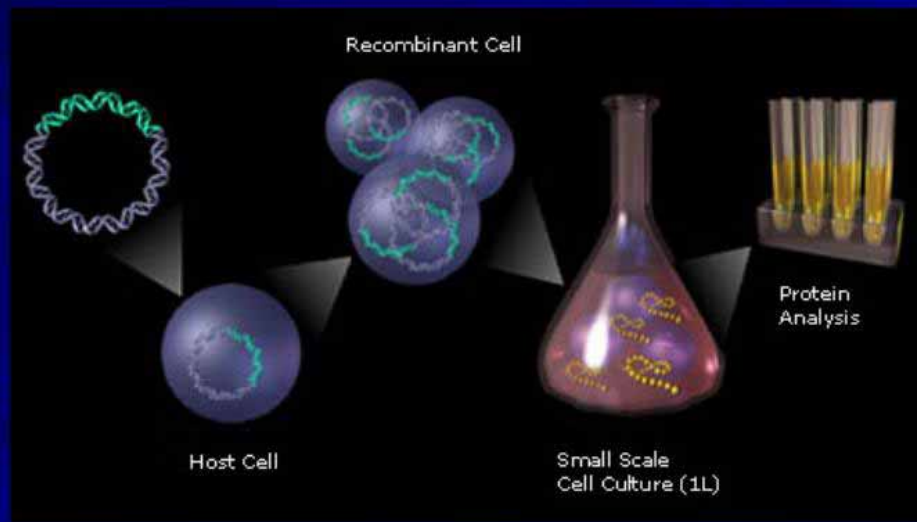
Gene therapy



Gene therapy



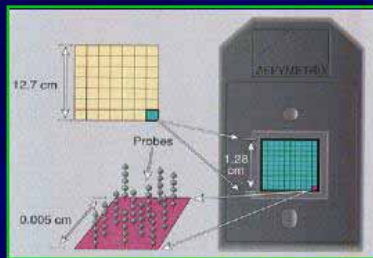
Protein engineering



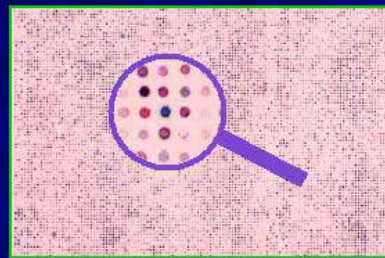
生物晶片 (biochips)

Biochips

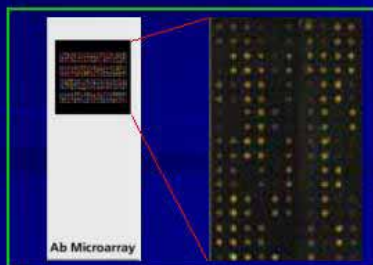
Oligonucleotide chip



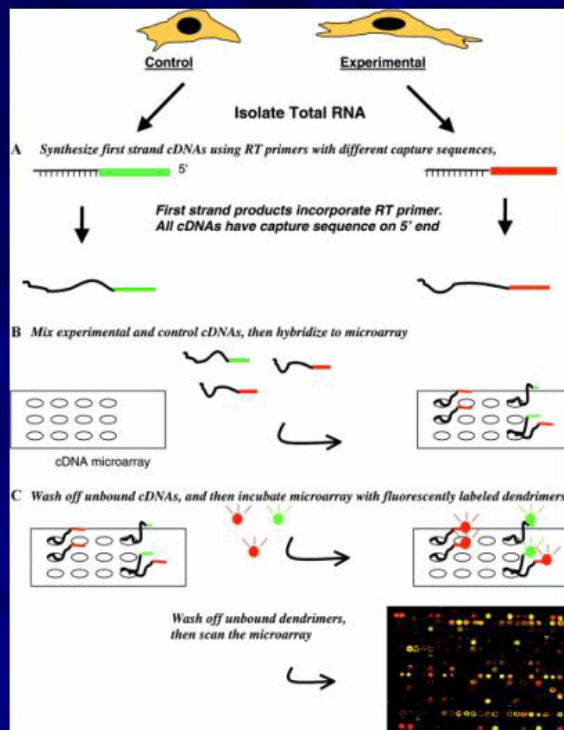
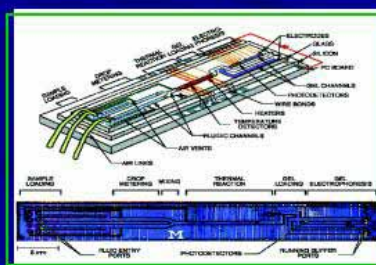
cDNA chip



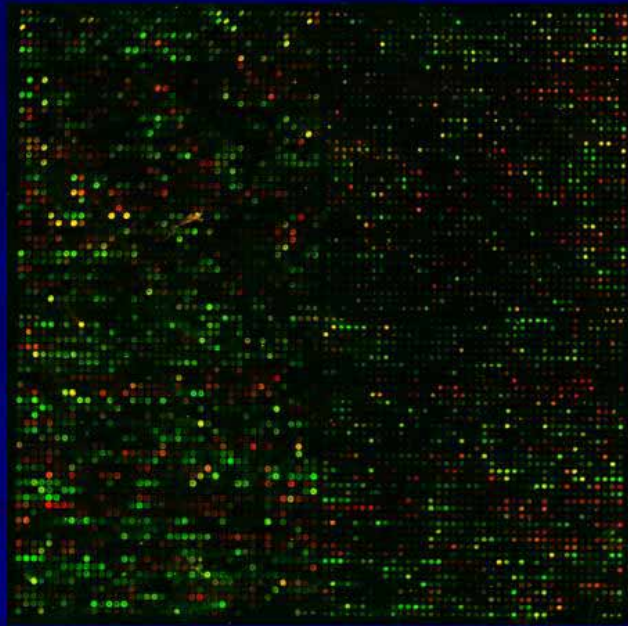
Antibody chip



Lab-on-a-chip

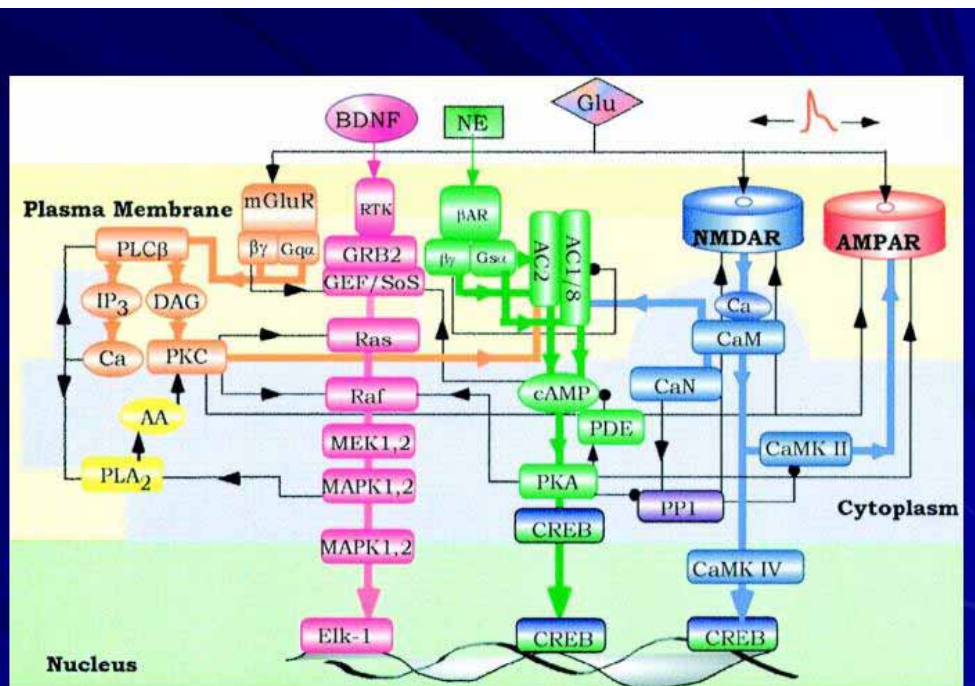


Microarray

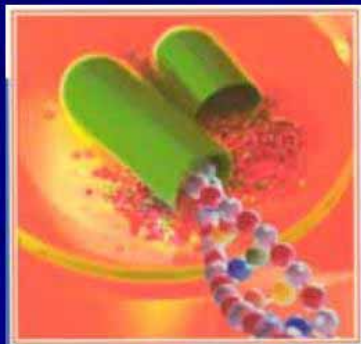


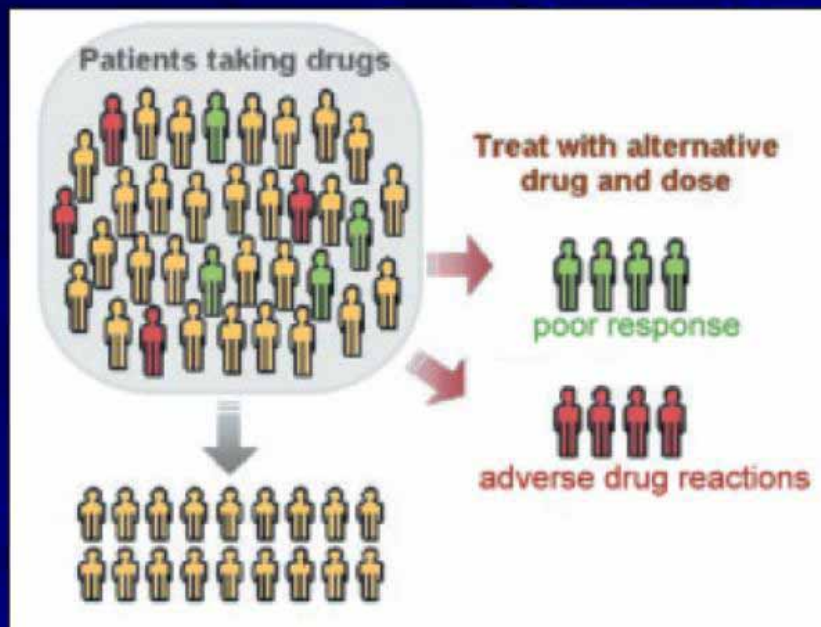
2D gel





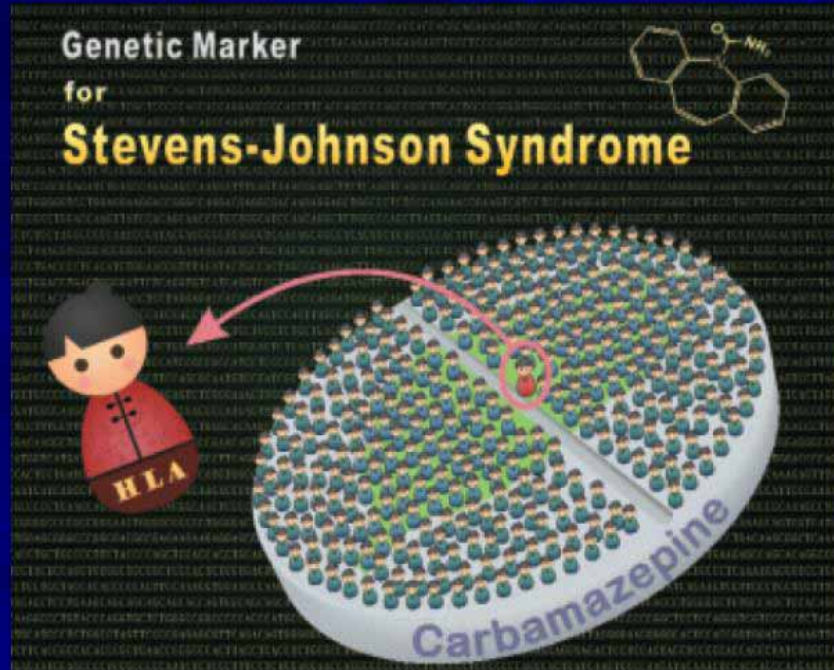
藥物基因體學 (pharmacogenomics)





Stevens-Johnson Syndrome





pharmacogenomics

- Avoid adverse drug reaction
- More effective treatment
- Personnel medicine

生物監測器 (biomonitor)

生物監測器

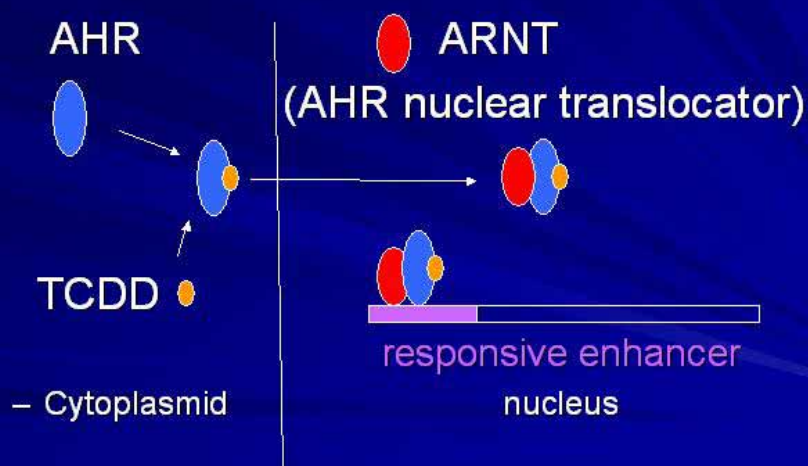
■ 以生物來監測環境中之毒物

- 苔蘚, 地衣
- 吳郭魚
- 九孔
- 蚯蚓
- 哺乳類細胞

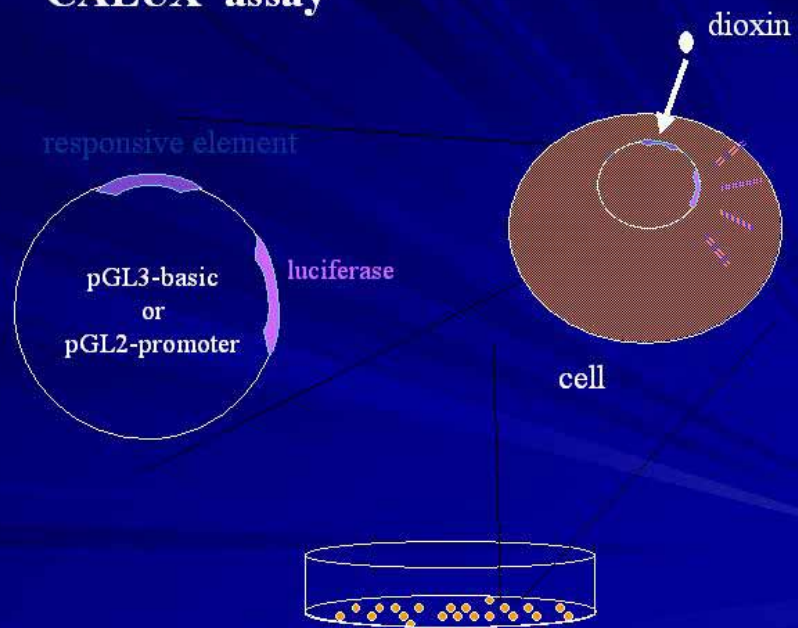
世紀之毒

- 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin
- 環境賀爾蒙
- 人類致癌物
- 暴露途徑：呼吸、食物、水源
- 污染排放的管制

AHR pathway



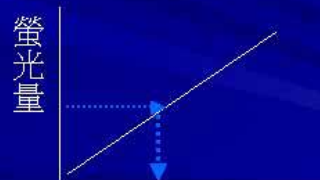
CALUX assay



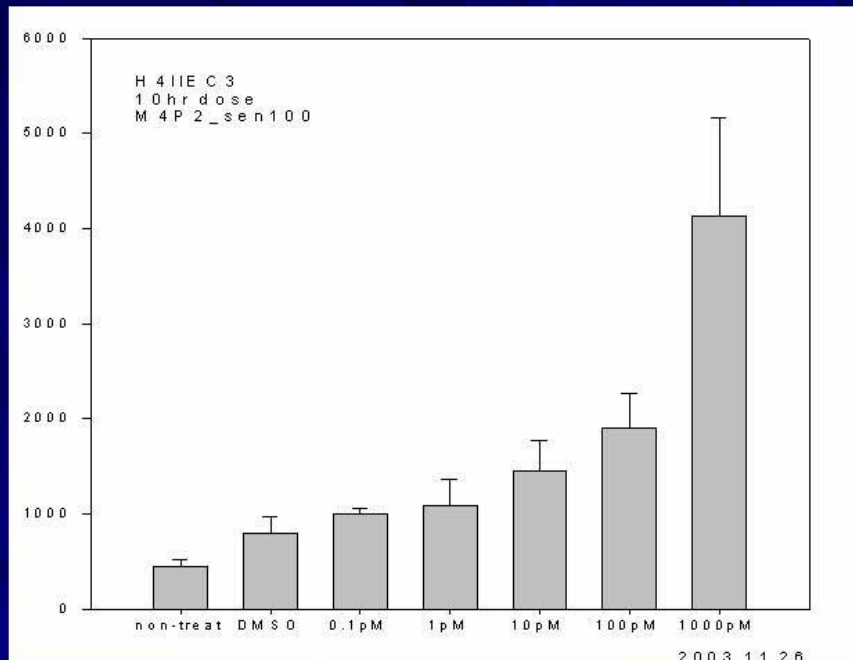
Standard curve



已知濃度dioxin



未知濃度dioxin



生物監測器

■ 以生物來監測環境中之毒物

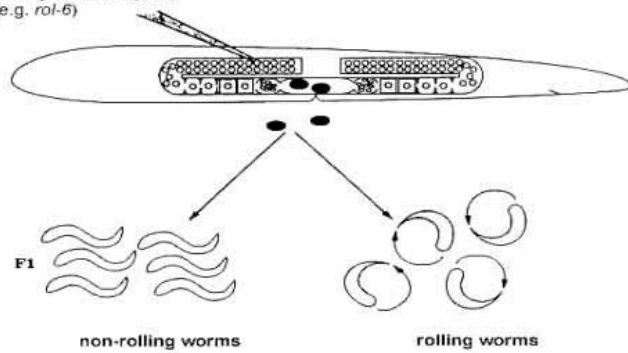
- 苔蘚, 地衣
- 吳郭魚
- 九孔
- 蚯蚓
- 哺乳類細胞

— 線蟲



Preparation of Transgenic *C. elegans*

Co-inject hermaphroditic worms with:
DNA with reporter gene (transgene)
Marker DNA (e.g. *rol-5*)



(after Aroian and Sternberg 1993)

cdr-1: cadmium-responsive gene-1

cdr-1::lacZ Reporter Gene Construct



Transgenic *C. elegans* as environmental bioindicators



No cadmium



100 μ M CdCl₂

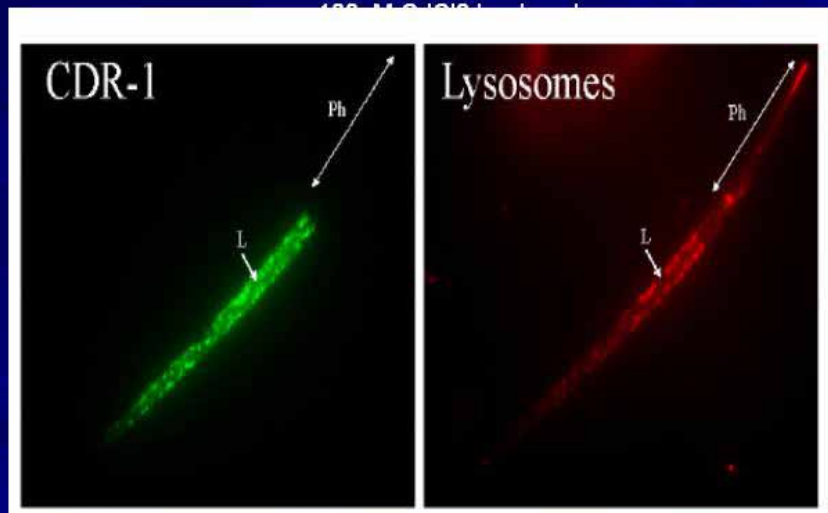
台大生工系廖秀娟助理教授

cdr-1::gfp Reporter Gene Construct



台大生工系廖秀娟助理教授

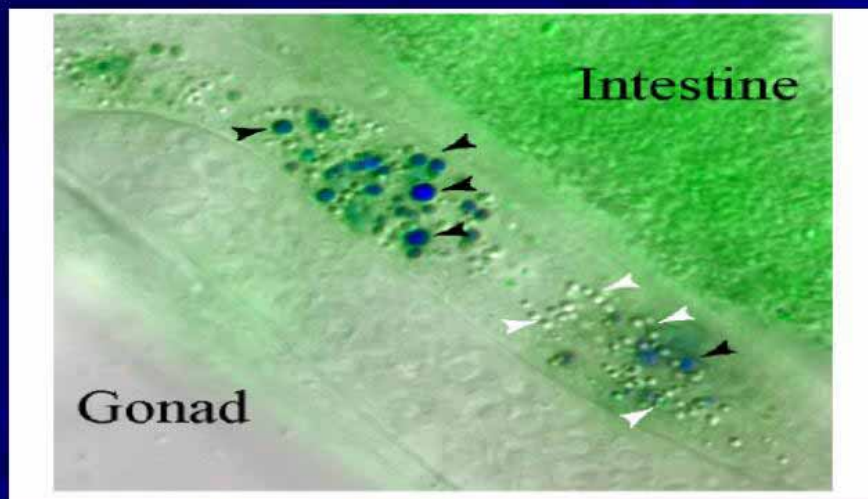
Transgenic *C. elegans* containing
cdr-1 / CDR-1-eGFP



From: Vivian H.-C. Liao et al. (2002) *J. Biol. Chem.* 277, 42049-42059

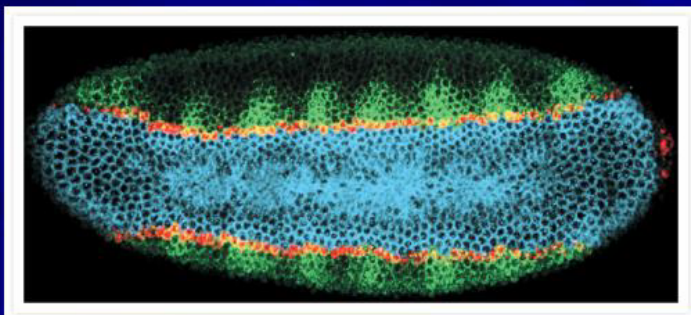
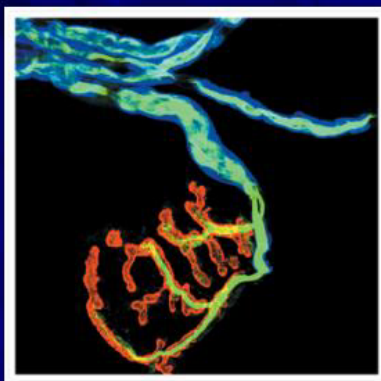
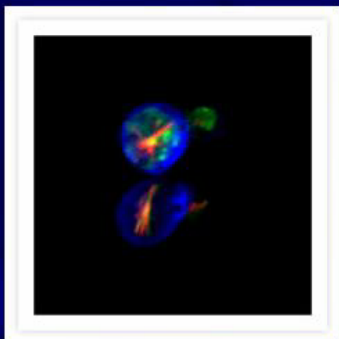
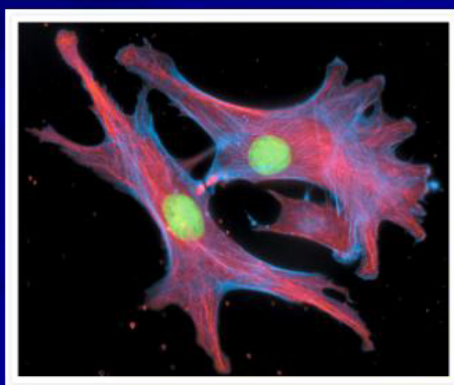
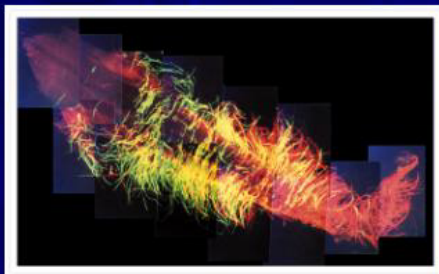
台大生工系廖秀娟助理教授

Intestinal Cell Lysosomes



From: Vivian H.-C. Liao *et al.* (2002) *J. Biol. Chem.* 277, 42049-42059

台大生工系廖秀娟助理教授



Monoclonal antibodies targeting a HSP2 protein overexpressing cell

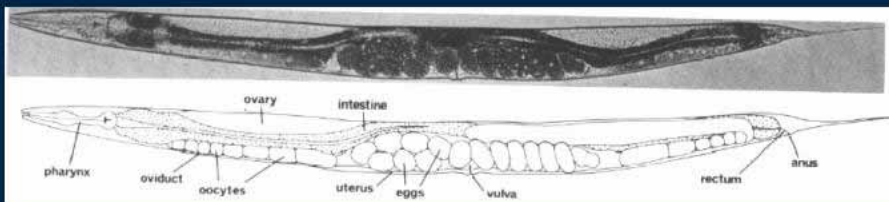
C. elegans 形態觀察



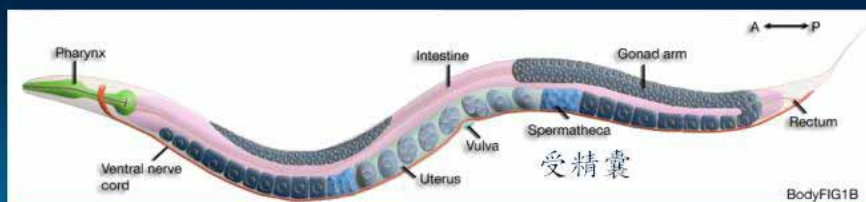
線蟲作為模式動物的優點

- 構造簡單（基因與細胞數量小）
- 繁殖速度快
- 容易培養（個體小，便於在實驗室大量培養）
- 可以低溫冷凍保存
- 全身透明
- 演化保守性
- 固定不變的細胞淵源

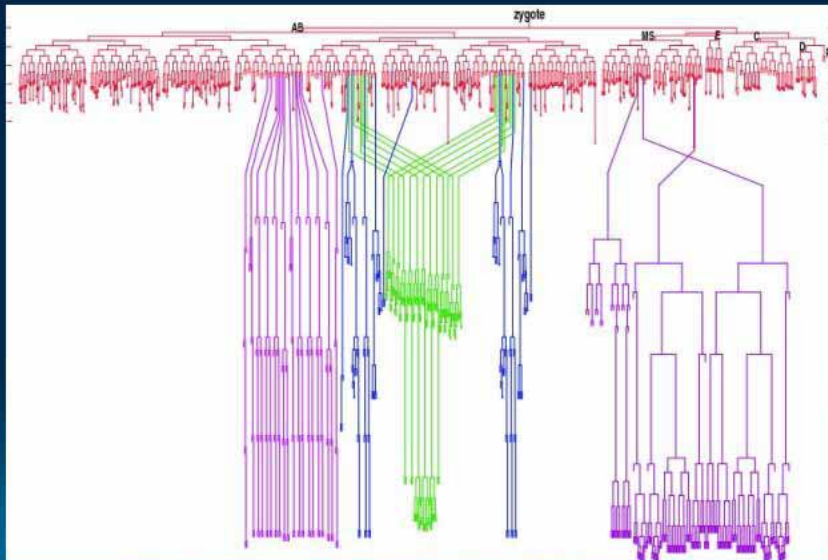
線蟲的基本形態



pharynx咽 oviduct輸卵管 oocytes卵 ovary卵巢 intestine腸
uterus子宮 eggs受精卵 vulva產卵孔 rectum直腸 anus肛門



固定不變的細胞淵源

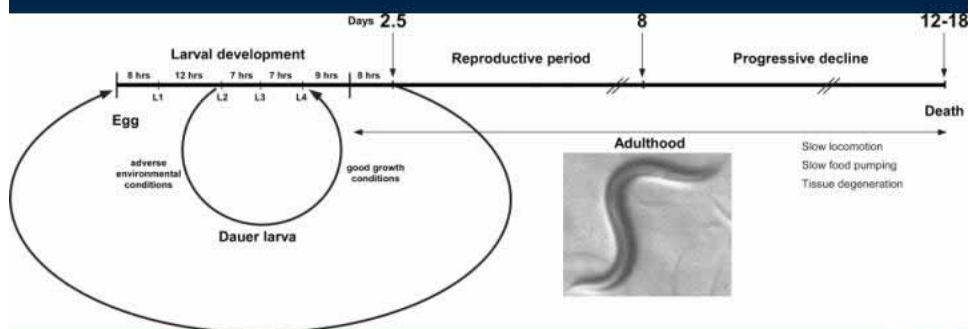


➤ <http://nema.cap.ed.ac.uk/teaching/devbio4/embryosjpg/top.html>

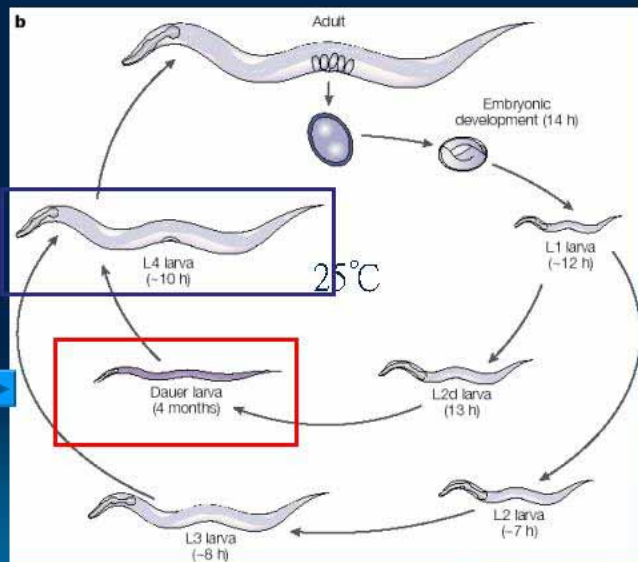
性別



線蟲的一生



生活史

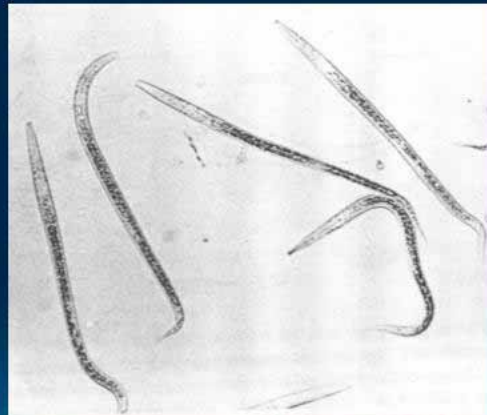


Adult and L4



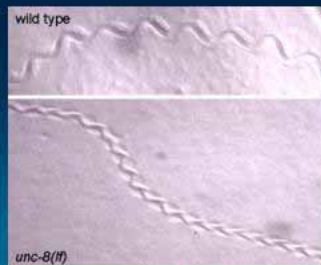
Dauer larva

- 在飢餓或太過擁擠的情況下出現
- 嘴癒合，角質層變厚
- 發育階段停止



突變線蟲

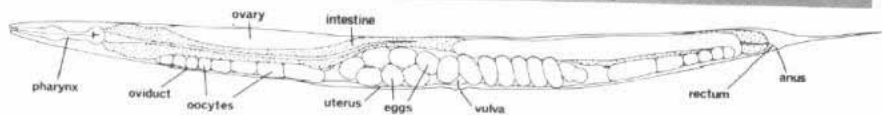
- 表型 (phenotype)
 - unc: uncoordinate 不協調
 - dpy: dumpy 矮胖粗短的
 - rol: roller 旋轉前進
- 用作篩選 (screen) 的指標



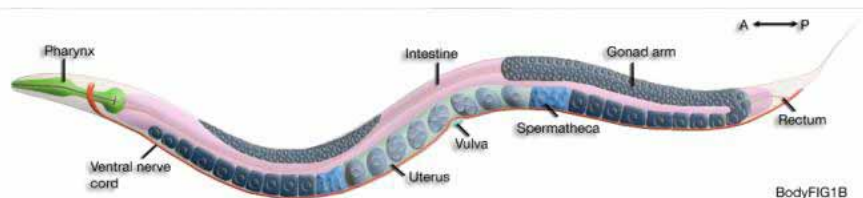
參考資料

- The art and design of genetic screens: *Caenorhabditis elegans*. Erik M. Jorgensen ,and Susan E. Mango. *Nature Reviews Genetics*, (2002) **3**,356-369
- Genetic Models of Mechanotransduction: The Nematode *Caenorhabditis elegans*. Popi Syntichaki ,and Nektarios Tavernarakis. *Physiological Reviews* (2004) **84**, 1097-1153
- *Caenorhabditis elegans* WWW Server
<http://elegans.swmed.edu/>

線蟲的基本形態



pharynx咽 oviduct輸卵管 oocytes卵 ovary卵巢 intestine腸
uterus子宮 eggs受精卵 vulva產卵孔 rectum直腸 anus肛門



BodyFIG1B

線蟲 PCR (worm PCR)

原理

聚合酵素鏈鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 是在現代生物學中，被廣泛使用來增殖 DNA 的一種實驗方法。PCR 最早是由美國 Cetus 公司的 Kary Millis 在 1984 年所發明，可以在很短的時間內，準確的對某一特定序列進行量的放大到 10^6 倍以上。

PCR 的原理十分簡單，在要放大的 DNA 片段兩端，分別設計一個前置引子 (forward primer) 和反置引子 (reverse primer)，使之與經高溫變性的單股 DNA 配對後，再使用由耐高溫細菌 (*Thermus aquaticus*) 中所分離出來的 DNA 聚合酵素 (Taq DNA polimerase) 進行 DNA 聚合反應，對目標片段進行複製。因此，PCR 的操作過程，可簡單的分為變性 (denature)、配對 (anealing) 與延伸 (extension) 三個部分。

透過自動化機械的技術，PCR 除了在各個生物實驗室中被廣泛使用外，同時也被大量應用在檢驗、公衛等其他領域之中，是現代生物學發展上一個相當重要的突破性技術。

本實驗使用經遺傳技術對特定基因序列進行刪除 (deletion) 後之突變線蟲株，透過 PCR 的進行，將可讓我們得知此突變是否成功。

材料

1. 線蟲
2. 溶解溶液 (lysis buffer)
3. PCR 反應試劑
4. 電泳設備與洋菜膠

步驟

1. 將一隻線蟲挑入含有 2.5 μ l 溶解溶液 (lysis buffer) 的 eppendorf 中。
2. 將 eppendorf 放到 -70°C，10 分鐘。
3. 將溶液移至冰上溶解後，加入一滴礦物油 (mineral oil)。
4. 60°C，一小時。
5. 95°C，15 分鐘。
6. 將 eppendorf 放在冰上，使其降溫至 4°C。
7. 加入 22.5 μ l 事先配好的 PCR mixture：
8. 以桌上型離心機將溶液離下。
9. 將 eppendorf 放入 PCR machine。
10. 進行 PCR program：

步驟	溫度 (°C)	時間
1	93	1 : 30
2	93	0 : 20
3	48	0 : 30
4	72	1 : 10
5	重複步驟 2~4，30 次	
6	72	5:00
7	結束	

11. 取 PCR 產物 4 ml 與 1 ml 5X loading dye 混合，注入電泳槽中，以 1% 洋菜膠電泳分析。

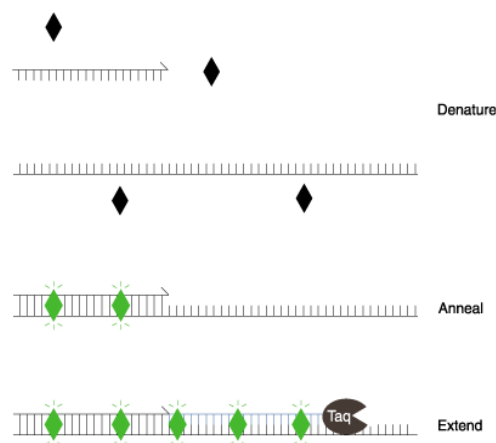
常見實驗原理簡介

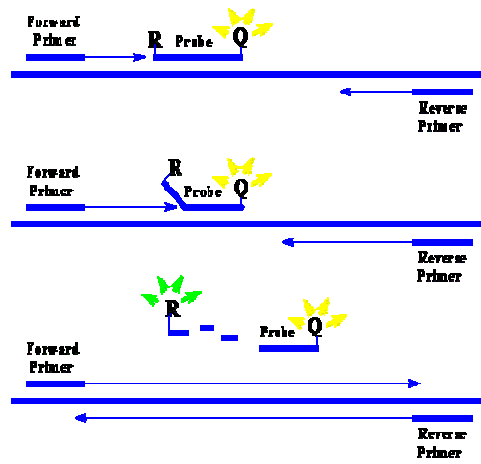
即時定量 PCR (real-time PCR)

即時定量 PCR 是一種將傳統 PCR 加以改良的新型聚合酵素鍊鎖反應，其優點是能夠在 PCR 反應進行的同時，即時測量 DNA 的產量，進而將 PCR 的結果數值化。由於 PCR 反應是以 2 的倍數在放大原始的範本 (template)，因此在反應最初加入的範本越多，進行相同次數的 PCR 反應後，所得的產物也就越多。傳統的 PCR 方法中，最後產物的濃度要靠跑膠後以螢光定量，但 real-time PCR 則可以在反應的過程中，就即時偵測每次反應後，產物的數量，不僅節省時間，也為整個實驗提供了更真實可信的數據。

目前在 real-time PCR 中，使用來偵測 PCR 產物的方法主要有 TaqMan probes 與 SYBR green I dye 兩種方式。TaqMan probes 是在 PCR 的反應中，除了原本的 primer 之外，再加入針對 PCR 產物有特異性 (specificity) 的探針 (probe)。在此探針上的兩端，分別接有會放出螢光的標定物 (reporter) 與會吸收標定物能量的抑制劑 (quencher)。當此兩種物質同時存在於探針上時，由於抑制劑會把標定物的能量吸收，所以就偵測不到標定物所放出來的螢光；相反的，當 PCR 反應進行時，此探針會被破壞，使得標定物與抑制劑分開，此時標定物就能夠穩定的放出螢光，而此法也就是藉著偵測標定物所發出的螢光強度，來為 PCR 產物定量。

第二種方法是使用 SYBR green I 這種會結合到雙股 DNA 上的螢光染劑，隨著 PCR 反應的進行，在每次延伸 (extension) 期的最後，就會有越來越多的雙股 DNA 存在，因此也就能偵測到較強的螢光強度。





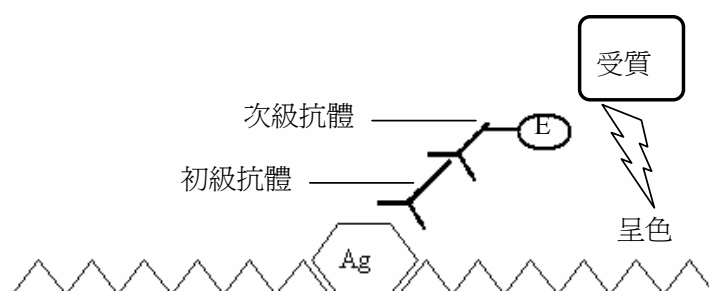
TaqMan probe

SYBR green I dye

酵素免疫分析法 (ELISA)

早在 1970 年代，除了顆粒性凝集反應 (agglutination tests) 和放射免疫分析法 (radioimmunoassay, RIA) 之外，科學家就已發展出固相酵素結合試劑 (solid phase enzyme-coupled reagent) 的分析法，對抗原與抗體進行簡單又靈敏地偵測和定量。其主要原理是將酵素以化學鍵連結至抗原或抗體後，再被用來測定免疫複合物 (immune complexes)，而此複合物是在一固相 (solid phase) 中形成。

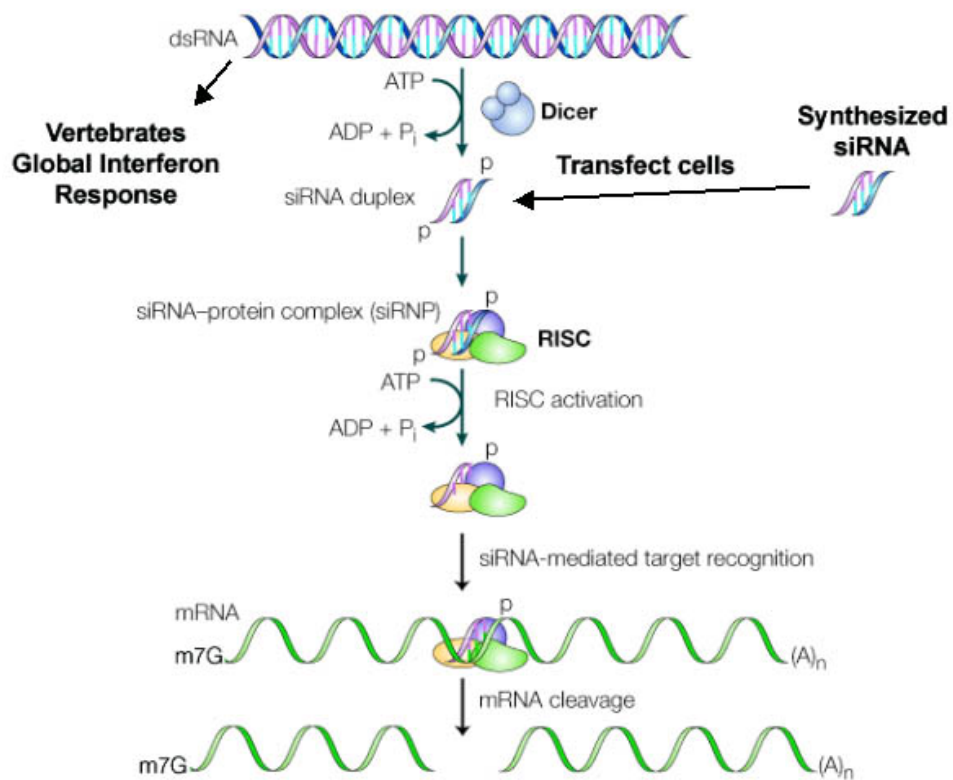
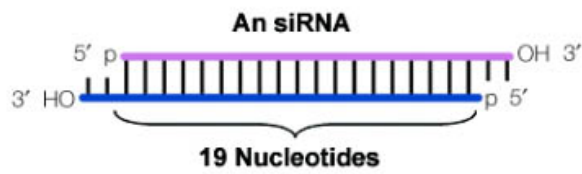
實驗中，將未結合到免疫複合物上的酵素連結物洗去，接著加入受質與酵素反應，便會產生有顏色的產物。經由光學密度 (optical density) 的測量，即可加以定量。由於酵素免疫分析法既簡單又靈敏，在一個簡單的實驗環境中，可被用來測定大量的微量樣本，因此，其已廣範地被使用在流行病學與感染性疾病的偵測。此外，亦經常地被用在單株抗體的篩選、荷爾蒙及藥物的偵測與定量、專一性抗體種類 (isotypes) 及免疫複合物的決定、與許多其它的應用方面。



RNA 干擾 (RNA interference, RNAi)

RNA 干擾是近年來在生物學研究上，時常被大家使用來抑制特定基因表現的一種實驗方法。RNA 干擾現象，在 1998 年首度在線蟲中發現，將雙股 RNA (dsRNA) 送入細胞中後，dsRNA 會被一種名為 Dicer 的酵素切割成許多小片段，這些小片段的 RNA (short interfering RNA, siRNA) 結合到與其序列互補的特定序列之 RNA 上後，會引發這些 RNA 的降解，使得 mRNA 無法轉譯為蛋白質，進而抑制了特定基因之表現。

RNAi 的現象除了在線蟲中被發現外，在植物、果蠅、酵母菌與哺乳類動物中，同樣都被證明有 RNAi 的機制存在。而 RNAi 的技術除了在實驗上，提供給科學家一個簡易操控基因表現的管道之外，在對疾病的治療上，也同樣具有莫大的潛力。



elegan—優雅的字根

若見過 *Caenorhabditis elegans* 曼妙的身段及渾然天成的爬行弧線，就不難想像為何有人稱 *Caenorhabditis elegans* 為秀麗線蟲。

線蟲在發育學的歷史

2002年，肉眼所見僅0.1公分左右的線蟲（*Caenorhabditis elegans*）在國際上大放異采。諾貝爾生理醫學獎頒發給在器官發育和計畫性細胞死亡遺傳調節（genetic regulation of organ development and programmed cell death）上有卓越貢獻的Sydney Brenner、Robert Horvitz和John Sulston三人。欲對發育生物學有更深一層了解的人們不能不去了解*C. elegans*這簡單多細胞生物的模式動物在現代發育生物學發展上的卓越貢獻。

Sydney Brenner可說是發展*C. elegans*為實驗模式動物的開山祖師。在雙股螺旋的風潮方興未艾，DNA轉錄成RNA，RNA轉譯出蛋白質的重大發現中，1963年Sydney Brenner提出了一個新想法，他認為分子生物學的許多問題已找到答案，生物學家應該去開拓一個更迷人的神秘領域——「發育生物學」。而要進一步了解細胞發育的模式必須發展新的模式動物。這個生物必須是具有細胞分化及器官構造的簡單生物體，並能以基本的遺傳方式分析。而線蟲易培養，生活史短；個體小便於操作大量個體數；細胞數不多，可徹底研究細胞譜系和模式；已有簡單遺傳技術可運用等幾項特性符合了新模式動物的需求。Sydney Brenner的高瞻遠矚和線蟲突變技術的發展，使線蟲儼然成為發育生物學研究上的利器。利用線蟲全身透明的特性，John Sulston發揮他的細心和耐心，從受精卵開始，紀錄每一次細胞分裂的時間和分裂後各個細胞的發展情形，直到受精卵發育成一隻具有959個體細胞的成蟲，建構了完整的細胞淵源圖（cell lineage map）。從細胞淵源圖可以清楚知道每隻線蟲具有相同的發育模式（fix-lineage）。John Sulston更從中發現線蟲在正常的發育過程中總是有131個特定的細胞會在特定的時間、地點死亡，形成鈕扣狀的細胞屍體（cell corpse），這種現象也就是我們目前所知的「計畫性細胞死亡（programmed cell death）」此外，他也找到第一個參與細胞死亡過程的基因（nuc-1）。John Sulston的發現提供了在活體中觀察細胞死亡的利器，細胞淵源圖也讓之後的研究者在尋找發育異常的突變性狀時更得心應手。Robert Horvitz利用基本的遺傳技術，搜尋調控計畫性細胞死亡的基因，利用細胞屍體數目變化的性狀，找到控制細胞死亡的幾個關鍵基因，如：ced-3和ced-4這兩個執行死亡任務的「殺手基因」；阻止「殺手基因」執行任務的「保鏢基因」——ced-9；收屍的第一清除大隊——ced-1、ced-6、ced-7和第二清除大隊——ced-2、ced-5、ced-10、ced-12等。Robert Horvitz也發現了這些基因是彼此合作參與細胞死亡，更重要的是在人身上也找到了同源的基因，為人體細胞凋亡（apoptosis）的分子機制提供了相關的資訊，向人類相關疾病的研究，如癌症或阿滋海默症展現一線契機。

線蟲在實驗上的優勢 1. 構造簡單，成體僅約有1000個體細胞，目前估計基因約19000個。各發育階段皆可用解剖顯微鏡來區別。 2. 繁殖速度快，生命週期在20℃時約三天，可在短時間內培養大量個體來進行遺傳分析。 3. 自由生活，以細菌為食，無寄生性，用簡單的細菌培養基即可培養。 4. 可以冷凍保存，對於突變

品系的保存相當方便。 5. 雌雄同體，自體受精，提高了遺傳實驗和突變株品系維持的便利性；亦可用雄性進行異體受精，進行遺傳分析。 6. 從卵、胚胎、幼蟲到成蟲皆為全身透明，利用相位差顯微鏡可以清楚看見所有細胞，再配合細胞淵源圖，對於分析突變和正常的情形很有價值。 7. 100Mb的遺傳序列已完整定序，具有演化上的保守性，便於進行分子層次的探討。 8. 可用化學突變劑、輻射、跳躍子或核糖核酸干擾技術（RNA Interference）來進行突變或分析基因功能。

線蟲生活史 線蟲（*C. elegans*）屬於線形動物門，在自然情況下是生活在土壤間水層中。有兩種性別，雌雄同體（hermaphrodite；XX）和雄性（male；XO）。雄性個體的產生係肇因於配子形成時（減數分裂）X染色體（性染色體）的無分離（non-disjunction），自然發生的機率約0.1%。在實驗操作中如欲使用大量雄性個體時，可以用熱刺激（heat shock）的方式提高X染色體無分離的機率。一隻成蟲約可產下300多個卵，卵細胞在通過儲精囊後即完成受精，接著受精卵會覆上一層卵殼，受精卵經多次細胞分裂變成胚胎，14小時後孵出成為第一期幼蟲（Larva one；L1），擁有588個體細胞。經過四次蛻皮（L1 L2 L3 L4）變為成蟲，含有959個體細胞。第四期幼蟲（L4）有明顯的特徵，蟲體發育中的產卵孔（vulva）會在體側形成一個略似蠶豆形的斑點。利用L4可以進行遺傳雜交的實驗（如同果蠅實驗中選用處女蠅）。由受精卵發育至成蟲能產下受精卵所需的時間隨著溫度會有些許變化，溫度有限制的增加可以加快線蟲生長發育的速度。一般而言，20℃環境下線蟲生活史約三天一代；25℃時約兩天半。環境中食物短缺時，L3、L4和成蟲會死亡，而L2會進入一個特殊的滯育期（dauer）以度過困境，滯育期約二個月，當食物供應回復正常時，L2便會從滯育回復到正常的發育。

工欲善其事，必先熟其技 拾起秘笈，一探究竟 **線蟲基本操作** 1. 基本微生物學技術（Basic Aseptic Techniques）為了避免線蟲培養過程中有其他細菌或真菌的污染，製作培養基、塗菌、配製相關溶液時皆必須注意器械和使用環境的滅菌，挑蟲移蟲時養成工具過火的習慣。 2. 線蟲的食物（Worm food）實驗室中的線蟲主要以一種特別的無抗藥性細菌菌株—OP50來餵養。由於OP50可自行製造尿嘧啶（Uracil），因此在特別配置的線蟲生長培養基上生長速度有限，僅會在塗菌區域內生長，如此可以避免線蟲陷於「菌海」之中而影響實驗的操作和觀察，亦能有效控制線蟲的活動範圍。塗菌時的菌液，以LB培養液在37℃培養箱中震盪培養（275rpm）過夜即可使用。若無培養箱或震盪器，也可以將OP50置於室溫中培養兩天，記得要偶而搖晃一下。有時為了繁殖大量線蟲或欲避免線蟲食物過早短缺，我們可以利用另一種生長較OP50快的HB101菌株來達到延長培養時間或取得大量線蟲的目的。 3. 種菌於線蟲生長培養基（Seeding Nematode Growth Medium）依照附錄完成線蟲生長培養基（Nematode Growth Medium；NGM）後，在培養基表面滴上適量的OP50菌液，均勻塗開。

塗菌時有三點須注意：第一，避免將菌液塗至培養基邊緣，以防線蟲離開濕潤培養基而乾死。第二，避免將培養基劃破，以防線蟲鑽至培養基中。第三，注意滅菌，避免污染，可以的話最好在無菌操作台中操作。塗菌後，將培養基靜置兩天讓細菌

生長成可見的「菌海」後即可使用。4. 線蟲的次培養(Subculturing Worms: chunking) 欲大量培養或將蟲移居至新培養基上時，可以用解剖刀將原本有蟲的培養基切下一塊（器械要注意過火燒紅以滅菌），面積大小依原培養基上線蟲的數量和遷移目的而定。有菌的一面朝下，放在新培養基的「菌海」邊緣。原本在培養基表面或因食物缺乏而鑽入培養基的線蟲會搜尋食物（細菌）的氣味而移動到菌海中。何時該移居線蟲呢？在線蟲生活史中我們得知線蟲在食物短缺時，L2會進入一個類似抗壓孢子的滯育時期（dauer），等待食物資源回復時能再次復甦。因此如果看到培養基上有L2（或L1）聚集成一個個小群聚或是培養基及「菌海」的厚度明顯變薄，線蟲在「菌海」中「游泳」的痕跡變淺等跡象就表示該chunking了。5. 挑線蟲 當要對特殊幾隻線蟲做遺傳實驗（例如：性狀觀察，雜交等）或特別處理時（例如：去污染，做PCR），我們會以挑蟲的方式來達成目的。

挑蟲工具稱為pick，製作方法很簡單：準備一隻玻璃滴管和一段約2-3公分的白金絲，利用本生燈將玻璃滴管管口燒融後接上白金絲，以硬幣把白金絲前端碾壓成平板狀，邊緣鋸齒部分磨平滑（以免傷害線蟲）後即可使用。使用白金絲的理由是因為鉑的比熱小，利用酒精燈即可燒紅滅菌，降溫也快，可以避免將蟲燙死。挑蟲時，在pick前端沾黏一些細菌，再輕觸欲搬移的目標線蟲，將其黏起後移至另一個培養基，pick輕觸培養基表面後線蟲即會自行爬出。挑蟲時和種菌同樣要注意避免刮傷培養基表面。6. 去除污染保存純品系 培養線蟲時可能會發生培養基污染或細菌污染的情形，可能出現的有非OP50的細菌、黴菌或塵蟎。這些污染會影響實驗的操作，例如線蟲藏匿在非OP50的細菌中，無法覓食造成發育不良；或在「黴菌森林」中穿梭，阻礙觀察；更甚者，有些黴菌會毒殺線蟲，塵蟎則會捕食線蟲。因此維護環境的清潔，養成實驗操作時的良好習慣，妥善滅菌等可使污染機會降低，實驗進行不易產生困擾。如不慎有污染發生，排除這些污染的方式有兩種：第一，每隔數小時遷移受污染培養基中的線蟲至乾淨無污染的培養基上，讓線蟲在爬行的過程中磨去黏附在蟲體上的污染細菌或孢子。第二，在乾淨無污染的培養基邊緣滴一滴去污染液（漂白水：5M NaOH=1：1），挑幾隻子宮內具有受精卵的成蟲放入

去污染液中，蟲體被溶解後，連帶的真菌和細菌也會被殺死。而受精卵有卵殼保護，不會受到去污染液的影響，可正常孵化成幼蟲。7. 冷凍線蟲 線蟲可以長期保存在液態氮中（-195.8℃）。L1和L2的線蟲在解凍之後恢復情形最佳，因此，如需長期保有某品系的線蟲，可以收集大量的L1和L2的線蟲進行冷凍。通常在細菌吃完的隔天會有較多的L1和L2的線蟲（依品系不同會有差異），趁L1和L2的線蟲最多且線蟲尚未鑽進培養基時，以M9（線蟲的生理液）將蟲洗下，加入和M9同體積的冷凍液（freezing solution），分裝於0.5毫升的小管中（吸取蟲液時需用玻璃滴管，避免線蟲黏附在管壁）。依序轉置到冰上、-20℃、-80℃冰箱中，最後儲存於液態氮桶。解凍線蟲時，從液態氮桶中取出小管，以體溫或在室溫初步溶解後，離心使蟲體下沉，去除上層冷凍液後，以玻璃滴管將蟲液滴至乾淨培養基菌海旁，線蟲即會慢慢甦醒爬至菌海覓食。8. 顯微鏡的使用 成體內眼可見的線蟲，在解剖顯微鏡下可以區分出性別和不同的發育階段。在相位差顯微鏡底下，則可以進一步解析觀察線蟲體內的器官，如：腸道、生殖腺、產卵孔等構造，也可以觀察到單一細胞的情形。使

用相位差顯微鏡時必須要製作線蟲玻片標本，和一般顯微玻片標本不同的是，線蟲無法直接放置在載玻片上，由於線蟲離

開濕潤培養基後會乾死，因此必須將線蟲放置於透明保水的膠體墊（agarose pad）上才能觀察。膠體墊的製作方法如下：以M9為溶劑配製1~4%的膠體液，以微波爐加熱沸騰使溶液均勻，再分裝至小管中存放於50-70℃的加熱板上以便隨時取用。製作線蟲玻片標本時，滴一滴膠體液在載玻片上，用另一片載玻片將膠體液均勻展開，待膠體凝固後移開上方載玻片，膠體墊即完成。在膠體墊上滴上一滴M9或麻醉藥劑，將線蟲挑至液體中，輕放蓋玻片即完成線蟲玻片標本。

甩開印象，睜開雙眼

一探視野底下線蟲的樣貌

線蟲觀察實驗

1. 發育階段：卵—comma 2-fold 3-fold 4-fold 幼蟲—L4 成蟲 線蟲卵的發育會經過數個階段，comma指的是線蟲胚胎形狀類似逗號的時期，之後胚胎會漸漸變成對折的情形，即稱為2-fold，依此演變，孵化前胚胎會發育成4-fold階段，即類似8字型彎曲的四折形狀。孵化後，幼蟲會經過四次蛻皮發育為成蟲。在四個幼蟲時期中，第四齡幼蟲（L4）的腹側中央在解剖顯微鏡下有一白斑，

此處即為發育中尚為成熟開放的產卵孔。而成體的線蟲體色較深，且可看到完整的生殖腺輪廓或排列整齊的卵細胞。 2. 性別辨識：雌雄同體（hermaphrodite）、雄性（male） 雌雄同體的成蟲尾端是平順收尖的，而雄性線蟲在L4時期即可在尾部看見類似箭突的形狀 3. 體內構造：咽（pharynx）、腸道（intestine）、生殖腺（gonad）、精匣（spermatheca）、子宮（uterus）、產卵孔（vulva） 4. 運動方式突變種：滾動型（roller）、癱瘓型（uncoordinated） 滾動型的線蟲（rol-6）是因為肌肉排列發生問題所導致的，而癱瘓型的線蟲（unc-32）則是因為神經突變導致無法正常運動。 5. 體型、構造突變種：矮胖型（dumpy）、一袋蟲（bag of worms） 產卵孔的發育產生突變（lin）造成受精卵無法產出體外而堆積在蟲體內孵化，便會造成一隻成蟲體內有一堆幼蟲的情形，這些幼蟲最後會破成蟲而出。 6. 報導基因的表現：綠色螢光（Green Florescence Protein）、紅色螢光（Red Florescence Protein） 在sur-5基因啟動子（promoter）後接上表現綠色螢光蛋白或紅色螢光蛋白的DNA序列，利用微注射（microinjection）的方式把重組的報導基因（sur-5::GFP或sur-5::RFP）打進線蟲體內即可發現有sur-5表現的全身體細胞都會發出綠色或紅色的螢光。若將sur-5基因啟動子改成unc-25基因的啟動子，則可發現神經細胞會發出螢光。

孟德爾的豌豆，連接了機率和生物

線蟲的性狀，帶領我們探究遺傳的面向

線蟲遺傳實驗

1. 棋盤方格的驗證 孟德爾的豌豆雜交實驗中，利用一對因子的實驗結果發現控制一種性狀的基因是兩個成對存在的，減數分裂形成配子時，成對的基因會互相分離至不同配子。性狀基因有兩種型式，一為顯性，一為隱性。顯性基因和隱性基因相遇時，只有顯性的性狀會表現在個體。上述的情形稱之為「分離律」。利

用線蟲，可以在短時間內驗證孟德爾的分離律，本實驗使用行動正常的線蟲(N2)和癱瘓型(unc-32)的線蟲來進行雜交。 1-1 挑8-10隻雄性N2和3隻雌雄同體的unc-32為親代(P0)，到培養基上，三天後移除。注意雄性N2和雌雄同體的unc-32皆需在L4發育階段。

1-2 待培養基上的卵全部孵化(約移除P0後兩天)，以pick 輕觸第一子代(F1)之線蟲，觀察其運動情形，紀錄表現性狀及比例，推測基因的組合填於右表。

1-3 挑數隻雌雄同體的F1，每一隻隔離於不同培養基上，三天後，移除F1，紀錄第二子代(F2)的性狀及比例。

表現性狀_____

基因組合_____

想一想：1. 為什麼要採用L4來進行實驗? 2. 為何要以正常的雄性個體來進行雜交?親代性別 互換後結果會一樣嗎? 3. 癱瘓型的unc-32是顯性基因還是隱性基因? 4. F2代行動正常和癱瘓的比例為何?請以棋盤 方格法驗證是否符合分離律。 5. F1和F2雄性比例何者較高?為什麼? 小技巧：雄性線蟲的出現機率低，利用熱刺激可以提高雄性 個體的發生率。方法如下：取數隻L4或剛成熟的雌雄 **自交雜交**

表現性狀_____

基因組合_____

親代(P0)

第一子代

(F1)

第二子代

(F2)

N2/N2♂ X unc-32/unc32♀

20℃，溫

使下一代出現雄性的比例提高。

)，將鳥糞

在抽氣櫃中進行。剩餘廢液以 1M

。關緊

離心移除上清液，重複 2-3 次。廢液須中和後

的親代

同體線蟲放至30℃培養箱處理6小時再移回 度升高，會2. 搜尋線蟲突變株 X射線、紫外光、伽馬射線、化學藥劑都會導致線蟲的基因產生突變。在實驗室中，化學藥劑較易取得並控制，故這個實驗中，我們使用ethyl methanesulfonate (EMS)來誘發線蟲的基因突變，EMS會造成點突變(point mutation)嘌呤轉變成腺嘌呤

呤(G/C A/T)。注意：EMS對人體有致癌的可能，且有揮發性。操作EMS時務必全程戴手套，並NaOH中和後方可倒棄。2-1 以M9收集大量的N2第四期幼蟲(L4)裝於離心管中。2-2 加入突變劑EMS，使蟲液中EMS濃度為47mM管蓋後再以paraffin密封，靜置四小時。2-3 離心使蟲體下沉，移除上清液。加入M9，清洗蟲體殘餘藥劑，再始可倒棄。2-4 經突變劑處理的線蟲為親代(P0)，將離心後蟲液滴至線蟲培養基上，待其發育至成蟲。2-5 捨棄P0第一天產下的卵，在P0開始產卵24小時後，每三隻P0為一組，分別移至不同的線蟲培養基上，每隔三小時遷移一次，分開收取P0第二天產下的卵。P0所產下的卵為第一子代(F1)。計算F1個體數目

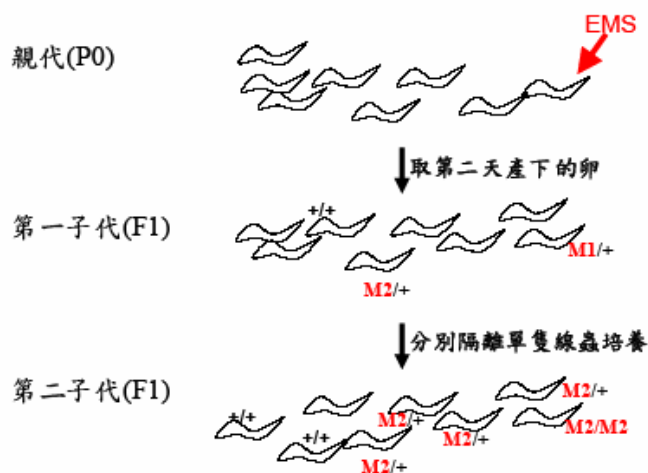
基因庫大小 (genome pool

2-6

子代 ()

的性狀，以確定隔離的性狀具有遺傳性。

可推定此次突變處理的 size) 來計算突變率。待F1為成蟲後，將F1單隻培養，觀察第二子代(F2) 性狀，隔離性狀有變異的F2，再分析第三F3



3. 找出基因在何條染色體 1911年，莫根在研究果蠅兩對基因遺傳時發現實驗結果的性狀比例不符合孟德爾的遺傳法則。現在我們知道，這是因為若無互換情形發生，同一條染色體上的基因，會分配到同一個配子中，這樣不符合獨立分配原則的現象稱為聯鎖，利用這種情形，我們可以將基因位置不明的突變株和已知基因位置的突變株雜交來判斷未知基因位在哪條染色體上。

線蟲計畫課程實施及內容：

為了提高研習課程的品質，並且依據國內各區域的特色及需要，我們將線蟲計畫梯次分為三梯次來舉辦。第一梯次提供台北市、台北縣、基隆市等北部地區高中老師報名報名。第二梯次提供桃園縣、新竹縣、新竹市、苗栗縣、台中縣、台中市、彰化縣、雲林縣、南投縣等中部地區高中老師報名。第二梯次提供嘉義縣、嘉義市、台南縣、台南市、高雄縣、高雄市、屏東縣、台東縣、花蓮縣、宜蘭縣、澎湖縣、金門縣、連江縣等南部及東部離島地區高中老師報名。來參加本計劃研習之高中老師不僅能夠學得知識，並且能夠就推廣線蟲作為模式生物到高中教材上面，依據地地區民情風俗需求不同交換意見，也能夠讓我們知道目前高中老師對於線蟲作為模式生物的看法與所遭遇的問題，對於我們民年舉辦”全國高中線蟲科學展覽壁報比賽”有所刊考意義。以下是課程安排之內容與詳細資料：

課程安排之時間：

課程時間表

第一梯次～民國 93 年 12 月 11、12 日（週六與週日共兩天）

第二梯次～民國 94 年 3 月 5、6 日（週六與週日共兩天）

第三梯次～民國 94 年 5 月 7、8 日（週六與週日共兩天）

(週六)		(週日)	
10:00~10:30	報到(三樓中庭)		
10:30~11:00	開幕典禮(3 樓視聽教室)	9:30~12:00	實驗時間(12 樓實驗教室)
11:10~12:10	吳益群老師授課(3 樓視聽教室)		
12:10~13:00	午餐時間(3 樓 3A 教室)	12:10~13:00	午餐時間(3 樓 3A 教室)
13:10~14:10	何國傑老師授課(3 樓視聽教室)	13:10~15:00	實驗時間(1 樓實驗教室)
14:10~17:30	實驗時間(12 樓實驗教室)	15:10~17:00	腦力激盪時間(3 樓視聽教室)

住宿資訊：

立德台大尊賢會館	(02)83692858	台北市羅斯福路四段 83 號
國立台灣大學鹿鳴雅舍	(02)33662238	台北市基隆路四段 144 巷 64 號
公務人力發展中心的福華文教會館	(02)83691155	台北市大安區新生南路三段 30 號
台灣師範大學校友樓	(02)23951141	台北市和平東路一段 129-1 號綜合大樓八樓

天成大飯店	(02)2361-7856	台北市忠孝西路1段43號
香城大飯店	(02)2704-9546	台北市信義路四段295號
亞太大飯店	(02)2772-2121	台北市忠孝路4段172號
華懋大飯店	(02)2521-0222	台北市中山北路1段83巷15號

如有近一步需要 可參考下列網址

<http://you168.idv.tw/moth102.htm>

公文及邀請函:

線蟲計畫之實施均於每梯次活動開始時間一個月之前委託台灣大學發送公函至全國各公私立高級中學，公告活動各項相關資訊。另一方面，同時發送邀請函至台灣大學相關學術單位之教授，邀請他們前來，給予本活動意見與指教。以下是各梯次公文之內容與格式以及邀請函之內容：

國立臺灣大學 函（稿）

地 址：106 台北市羅斯福路四段一號

聯絡電話：二三六三〇二三一轉二三五二

聯 絡 人：林紀佑

傳真電話：二三六七三三七四

電子信箱：nemato@oikos.lifescience.ntu.edu.tw

受文者：如正副本

速別：普通

密等及解密條件：

發文日期：中華民國九十四年一月二十日

發文字號：字第號

附件：如文(議程大綱・DOC、活動時間表・DOC、位置圖・DOC)

主旨：本校辦理九十三年度國科會科教處委託高級中學教師在職進修

分類號(案名)：技術種子教師培養計畫」研習會，隨文檢附
間表與交通路線圖各一份，請轉知 貴屬教
師及相關人員報名參加並惠允公假，敬請 查照。

說明：

一、研習會日期：九十四年三月五日及六日

二、報名截止日期為九十三年三月一日

三、報名參加人員請傳真報名或至本計劃網站
<http://magicfx.m3.ntu.edu.tw/nemato/index.php> 線上報名

四、敬請鼓勵教師踴躍參加，全程參加教師將核發十二小時研習時數。

五、未盡事宜請洽台大動物所李心予實驗室本計劃活動小組電子信箱 nemato@oikos.lifescience.ntu.edu.tw

六、關於本計劃任何詳細資訊及最新消息請洽本計劃網站
<http://magicfx.m3.ntu.edu.tw/nemato/index.php>

正本：各縣市公私立高級中學

副本：國科會教科處、台大生命科學系

校 長 陳 維 昭

教授道鑒：

本系受國科會科教處委託，將於九十三年十二月十一日(星期六)舉辦高級中學教師在職進修活動——高中生物技術種子教師培養計畫——研習會，僅訂於是日上午十時三十分於本校生命科學館三樓視聽教室舉行開幕儀式，敬請撥冗蒞臨，俾添光采。肅此奉邀。祇頌研祺

台灣大學

生命科學系代系主任

林 讚 標 謹上
九十三年十一月二十六日

教師研習條與公文:

有鑒於高中老師對於在職研習時數之需求，我們委託台灣大學發送公文至各縣市政府教育局，核發教師在職進修研習時數十二小時。來參加本活動之高中老師若全程參與，都可以得到計畫主辦單位國立台灣大學生命科學系核發之研習條證明。以下是同意核發教師在職進修研習時數之縣市政府教育局，以及公文內容：

國立臺灣大學 函（稿）

地 址：106 台北市羅斯福路四段一號

聯絡電話：二三六三〇二三一轉二三五二

聯 絡 人：林紀佑

傳真電話：二三六七三三七四

電子信箱：nemato@oikos.lifescience.ntu.edu.tw

受文者：如正副本

速別：普通

密等及解密條件：

發文日期：中華民國九十四年一月二十日

發文字號：字第號

附件：如文(議程大綱・DOC、活動時間表・DOC、位置圖・DOC)

主旨：本校辦理九十三年度國科會科教處委託高級中學教師在職進修

分類號（案名）：研習會「**技術種子教師培養計畫**」研習會。申請 貴
進修研習時數十二小時。隨文檢附研習大
綱、活動時間表與交通路線圖各一份，敬請 查照核辦惠復。

說明：

七、研習會日期：九十四年三月五日及六日

八、報名截止日期為九十三年三月一日

九、報名參加人員請傳真報名或至本計劃網站
<http://magicfx.m3.ntu.edu.tw/nemato/index.php> 線上報

名

十、敬請鼓勵教師踴躍參加，全程參加教師將核發十二小時研習時數。

十一、未盡事宜請洽台大動物所李心予實驗室本計劃活動小組電子信箱 nemato@oikos.lifescience.ntu.edu.tw

十二、關於本計劃任何詳細資訊及最新消息請洽本計劃網站
<http://magicfx.m3.ntu.edu.tw/nemato/index.php>

正本：各縣市政府教育局、教育部中部辦公室

副本：國科會科教處、台大生命科學系

校 長 陳 維 昭

研習計劃名稱	同意核發日期	研習時數	核准單位 核發文號	蓋章
國科會科教處九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫—「線蟲計畫」	93/11/9	12 小時	核准單位：台北縣政府 文號：北府教中第 0930756671 號	國立臺灣大學 研習處 修 章
國科會科教處九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫—「線蟲計畫」	93/11/5	12 小時	核准單位：教育部中部辦公室 文號：教中(一)字第 0930597544 號	國立臺灣大學 研習處 修 章
國科會科教處九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫—「線蟲計畫」	93/11/15	12 小時	核准單位：台北市政府教育局 文號：北市教中字第 09338934600 號	國立臺灣大學 研習處 修 章
國科會科教處九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫—「線蟲計畫」	94/2/14	12 小時	核准單位：南投縣政府教育局 文號：府教督字第 09400348160 號	國立臺灣大學 研習處 修 章
國科會科教處九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫—「線蟲計畫」	94/2/5	12 小時	核准單位：台中市政府教育局 文號：府教學字第 0940024783 號	國立臺灣大學 研習處 修 章
國科會科教處九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫—「線蟲計畫」	94/2/4	12 小時	核准單位：苗栗縣政府教育局 文號：府教務字第 0940015968 號	國立臺灣大學 研習處 修 章
國科會科教處九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫—「線蟲計畫」	94/2/4	12 小時	核准單位：新竹市政府教育局 文號：府教學字第 070940000017 號	國立臺灣大學 研習處 修 章
國科會科教處九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫—「線蟲計畫」	94/2/17	12 小時	核准單位：桃園縣政府教育局 文號：府教學字第 0940040744 號	國立臺灣大學 研習處 修 章
國科會科教處九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫—「線蟲計畫」	94/3/25	12 小時	核准單位：台南縣政府 文號：府教發字第 0940053787 號	國立臺灣大學 研習處 修 章
國科會科教處九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫—「線蟲計畫」	94/3/15	12 小時	核准單位：台南市政府 文號：南市教學字第 09400208900 號	國立臺灣大學 研習處 修 章
國科會科教處九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫—「線蟲計畫」	94/3/23	12 小時	核准單位：花蓮縣政府 文號：府教學字第 09400398670 號	國立臺灣大學 研習處 修 章
國科會科教處九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫—「線蟲計畫」	94/3/15	12 小時	核准單位：屏東縣政府 文號：屏府教學字第 0940045959 號	國立臺灣大學 研習處 修 章
國科會科教處九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫—「線蟲計畫」	94/3/21	12 小時	核准單位：高雄縣政府 文號：府教學字第 0940056514 號	國立臺灣大學 研習處 修 章
國科會科教處九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫—「線蟲計畫」	94/3/16	12 小時	核准單位：高雄市政府 文號：高市教一字第 0940007989 號	國立臺灣大學 研習處 修 章

●本研習依規定採計 12 小時分散式研習時數，同意核發研習十數之縣市政府教育局為下：

94/3/16 高雄市政府 同意核發

高雄市各高中全程參與教師研習時數 12 小時。

發文字號：高市教一字第 0940007989 號

94/3/21 高雄縣政府 同意核發

高雄縣各高中全程參與教師研習時數 12 小時。

發文字號：府教學字第 0940056514 號

94/3/15 屏東縣政府 同意核發

屏東縣各高中全程參與教師研習時數 12 小時。

發文字號：屏府教學字第 0940045959 號

94/3/23 花蓮縣政府 同意核發

花蓮縣各高中全程參與教師研習時數 12 小時。

發文字號：府教學字第 09400399670 號

94/3/15 台南市政府 同意核發

台南市各高中全程參與教師研習時數 12 小時。

發文字號：南市教學字第 09400208900 號

94/3/25 台南縣政府 同意核發

台南縣各高中全程參與教師研習時數 12 小時。

發文字號：府教發字第 0940053787 號

93/11/15 台北市政府 同意核發

台北市各高中全程參與教師研習時數 12 小時，

課程代號 3-3-004。

發文字號：北市教中字 09338934600 號

93/11/9 台北縣政府 同意核發

台北縣各縣立高中全程參與教師研習時數 12 小時，

課程代號 3-3-004。

發文字號：北府教中第 0930756671 號

93/11/5 教育部中部辦公室 同意核發

國立及台灣省私立高中參與之合格教師研習時數共 12 小時，

發文字號：教中(一)字第 0930597544 號

94/2/17 桃園縣政府教育局 同意核發

桃園縣市公私立高中參與之合格教師研習時數共 12 小時，
發文字號：府教學字第 0940040744 號

新竹市政府教育局 同意核發

新竹市公私立高中參與之合格教師研習時數共 12 小時，
發文字號：府教學字第 070940000017 號

94/2/4

苗栗縣政府教育局 同意核發

苗栗縣公私立高中參與之合格教師研習時數共 12 小時，
發文字號：府教務字第 0940015968 號

94/2/5

台中市政府教育局 同意核發

台中市公私立高中參與之合格教師研習時數共 12 小時，
發文字號：府教學字第 0940024783 號

94/2/14

南投縣政府教育局 同意核發

南投縣公私立高中參與之合格教師研習時數共 12 小時，
發文字號：府教督字第 09400348160 號

新聞稿之發送與新聞報導：

為了擴大本活動舉辦之視聽，我們特別向各大媒體發送新聞稿，將本活動宣傳至大眾媒體，期望藉此更能夠將本活動的宗旨傳達到全國每一角落。結果尬大媒體報導踴躍，我們擷取自由時報與中央日報九十三年十一月十二日的報導於此。以下是我們發送的新聞稿內容以及各大媒體的報導內容：

國立台灣大學生命科學系將於 93 年 12 月 11 日舉辦受國科會教科處委託之高級中學教師在職進修活動—「高中生物技術種子教師培養計畫」研習會(相關訊息見該計畫網站：<http://magicfx.m3.ntu.edu.tw/nemato/index.php>)。這是台灣大學首次辦理與生物科學相關的高中老師在職進修活動。活動主旨在於推動全國公私立

高中學生參與生物學門相關科學展覽活動，並寄望藉由這三個梯次的活動，培養出專業的生物”種子教師”，並期望這些種子教師回到任職之學校後，能推動以線蟲為模式相關的科學展覽活動，以達到科學普及化的目標。

科學展覽活動在國內已經實行多年，藉由舉辦科學展覽活動也培養出許多優秀的學生。然而，高中科學展覽的內容與各大專院校實際的學術研究內容仍然有一段差距。有鑑於此，台灣大學生命科學系主動承辦本次活動，目的在於將實際的學術研究精神及內容，傳達給全國各高級中學，建立起一個高中與大學在科學研究上的交流平台。台大希望藉此首例，帶動起全國各大專院校與高級中學科學教育交流風氣，共同提升國內中等學校科學教育的品質。

線蟲是一種構造簡單的生物，其主要生長環境為土壤，由於取得容易，培養簡單，其透明的身軀使其適合拿來作為醫學疾病現象的研究。此外，由於線蟲基因已完全定序，因而漸漸成為科學界熱門的寵兒。比起其他的模式動物如大鼠、天竺鼠與果蠅來說，線蟲在於培養條件上的低門檻，使其更適合拿來當作高中生物科學的教材。台灣大學生命科學系希望藉由此次線蟲計畫的推動，讓全國高中生物教學，未來能與大專院校的學術研究接軌。

事實上，新加坡政府積極致力於把生命科學發展成為該國製造業的第四根支柱。為更好地領導和協調生命科學領域的發展，新加坡政府專門成立了生命科學部長級委員會，並邀請了被譽為”分子細胞學之父”的美國分子科學機構總裁，同時為2002年諾貝爾生醫獎得主布倫納教授(Sydney Brenner)擔任諮詢顧問，領導由至

少 12 名國際知名科學家組成的國際諮詢理事會，協助執行委員會制定生命科學發展以及新加坡生命科學教育的發展方向。由於布倫納教授利用線蟲為模式生物研究生命體的發育而榮獲 2002 年諾貝爾生醫獎，因此他將線蟲的研究當作新加坡生命科學教育發展的主軸。在布倫納教授成功的領導之下，線蟲的研究成功的推展至新加坡高級中學科學教育內容。新加坡政府這種由中統籌規劃成立科學教育委員會，委託大專院校等學術機構舉辦活動，成功推廣科學教育至高級中學的模式，十分值得我們的借鏡。因此，本次由國內科學教育機構國科會教科處主辦，國內大專院校龍頭台灣大學承辦的科學教育推廣模式，正是我國推廣科學教育的處女秀。期望能夠像新加坡一樣，藉由以線蟲研究為主軸，達到成功推展國內生命科學教育的成果。

民國九十三年十二月十二日 星期日

(14)

中央日報

生科教育新寵

培養條件低
基因已定序

線蟲研究

臺大生命科學系建議將取得容易、培養簡單的研究作為高中生教材 盼透過線蟲計畫與大學學

臺大生命科學系於昨日起舉辦為期兩天的「高中生物教師進修活動——高中生物技術種子教師研習計畫」研習會。這項首次辦理與生物科學相關領域的高中老師進修活動，主要目的在於推動全國公立高中學生參與生物學相關科學展覽活動，並培養專業生物種子教師。藉由三梯次的活動，期望這些種子教師能回到任職學校後，能夠推動以線蟲為模式生物相關的科學展覽活動，達到科學普及化的目標。

臺大生命科學系表示，科學展覽活動在國內已經實行多年，藉由舉辦科學展覽活動培養出許多優秀的學生。然而高中科學展覽的內容與各大專院校實際的學術研究內容仍有一段差距。為此，臺大希望能夠將實際的學術研究精神及內容，傳遞給全國各高級中學，建立一個高中與大學在科學研究上的交流平台。

臺大醫學院產科醫師劉豐舟指出，此次由國科會教科處主辦，臺大承辦的科學教育推廣模式，是國內推廣科學教育的創舉，不僅希望藉此帶動全國各大專院校與高中科學教育交流風氣，共同提升國內中等學校科學教育的品質，同時也期望能夠像新加坡一樣，藉由以線蟲研究為主軸，帶動研究生命體的發育，達到成功推展國內生命科學教育普及化的目標。

「線蟲」是一種構造簡單、體型微小、容易飼養、繁殖力強、基因已定序、加上線蟲基因已完全定序，因此成為科學界熱門的寵兒。

比起其他的模式動物如大鼠、小鼠與果蠅，線蟲在於培養條件上的低門檻，使它更適合拿來當作高中生物科學的教材。

近年來新加坡政府積極致力於生命科學發展，作為該國製造業的第四根支柱。除了特別成立生命科學部長級委員會外，還邀請該會為「分子細胞學之父」的美國分子科學機構總裁布倫納教授擔任諮詢顧問，協助執行委員會制定生命科學教育，及新加坡生命科學教育的發展方向。

由於布倫納教授利用線蟲為模式生物研究生命體的發育，於二〇〇二年榮獲諾貝爾生醫獎，因此也將線蟲的研究當作新加坡生命科學教育發展的主軸。在布倫納教授成功的領導之下，現今線蟲



參加開幕典禮觀禮來賓與學者:

本活動舉辦之開幕典禮於民國九十三年十二月十一日週六上午十時三十分舉行，適逢線蟲計畫第一梯次活動開始前舉辦。當天有來自各領域之專家學者均前來參加本開幕典禮，以下是前來參加本活動開幕典禮之來賓之簽到情況與詳細資料：

開幕典禮來賓名單

廖達珊	台北市建國中學生物科老師
謝豐舟	臺大醫院婦產科主治醫師 臺大醫學院教授
陳益明	台灣大學生命科學系教授
劉廣定	台灣大學化學系教授

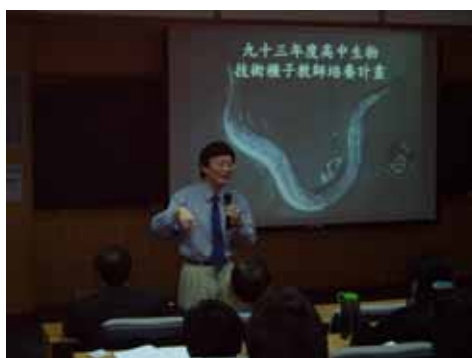
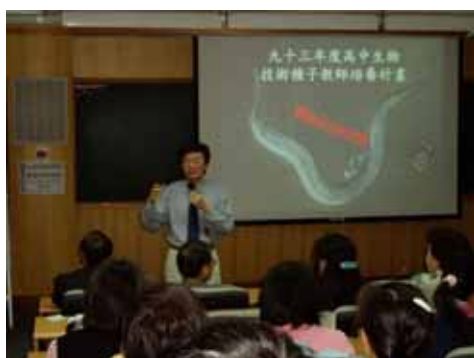
邱錦輝	國科會生物處研究員
林曜松	台灣大學生命科學院院長
吳靜雄	台灣大學電機工程學系教授
吳武雄	台北市建國中學校長
吳益群	台灣大學生命科學系副教授
彭文正	台大新聞所教授
黃啟穎	台灣大學生命科學系教授
楊濬光	新店慈濟醫院主治醫師
陶錫珍	台灣大學生命科學系副教授
陳瑞芬	台灣大學生命科學系助理教授
李心予	台灣大學生命科學系助理教授
林讚標	台灣大學生命科學系教授





活動花絮與照片集:

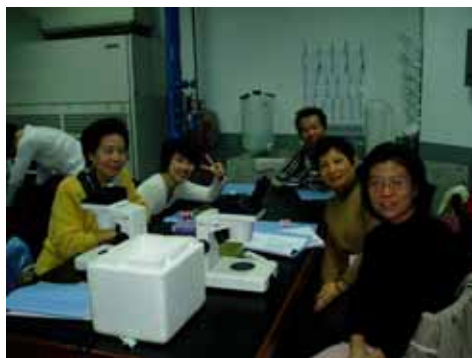






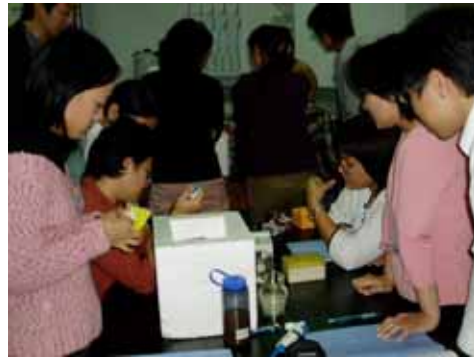


























線蟲計畫之實驗活動進行:

線蟲計畫各梯次參加學員人數不同。為了維護實驗活動之品質，我們將前來參加之學員分成數個小組。每小組人數約六人左右，小組成員內有來自各個不同高級中學的生物老師，學員們在實驗之餘，還可以相互交流意見。所有實驗的結果我們後放置在線蟲計畫專屬網頁上，學員們可以隨時隨地從網頁上回顧他們的實驗結果。實驗活動安排種類多元，除了有一般的基礎實驗之外，還有特別舉辦隻挑線蟲比賽，激發學員之間的鬥志與向心力，讓學員對線蟲有更一步認識外，還能夠激發出學員對於線蟲強烈的興趣。我們也準備了精美的贈品頒發給當天線蟲比賽勝利的小組學員，認真實驗的學員也額外頒發給他小獎品，整個實驗過程就在歡笑聲中結束。以下是第一梯次學員們的實驗結果:

實驗項目:線蟲 PCR (worm PCR)

原理

聚合酵素鏈鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 是在現代生物學中，被廣泛使用來增殖 DNA 的一種實驗方法。PCR 最早是由美國 Cetus 公司的 Kary Millis 在 1984 年所發明，可以在很短的時間內，準確的對某一特定序列進行量的放大到 10^6 倍以上。

PCR 的原理十分簡單，在要放大的 DNA 片段兩端，分別設計一個前置引子 (forward primer) 和反置引子 (reverse primer)，使之與經高溫變性的單股 DNA 配對後，再使用由耐高溫細菌 (*Thermus aquaticus*) 中所分離出來的 DNA 聚合酵素 (Taq DNA polimerase) 進行 DNA 聚合反應，對目標片段進行複製。因此，PCR 的操作過程，可簡單的分為變性 (denature)、

配對（anealing）與延伸（extension）三個部分。

透過自動化機械的技術，PCR 除了在各個生物實驗室中被廣泛使用外，同時也被大量應用在檢驗、公衛等其他領域之中，是現代生物學發展上一個相當重要的突破性技術。

本實驗使用經遺傳技術對特定基因序列進行刪除（deletion）後之突變線蟲株，透過 PCR 的進行，將可讓我們得知此突變是否成功。

材料

5. 線蟲
6. 溶解溶液（lysis buffer）
7. PCR 反應試劑
8. 電泳設備與洋菜膠

步驟

12. 將一隻線蟲挑入含有 2.5 μ l 溶解溶液（lysis buffer）的 eppendorf 中。
13. 將 eppendorf 放到 -70°C，10 分鐘。
14. 將溶液移至冰上溶解後，加入一滴礦物油（mineral oil）。
15. 60°C，一小時。
16. 95°C，15 分鐘。
17. 將 eppendorf 放在冰上，使其降溫至 4°C。
18. 加入 22.5 μ l 事先配好的 PCR mixture：
19. 以桌上型離心機將溶液離下。
20. 將 eppendorf 放入 PCR machine。
21. 進行 PCR program：

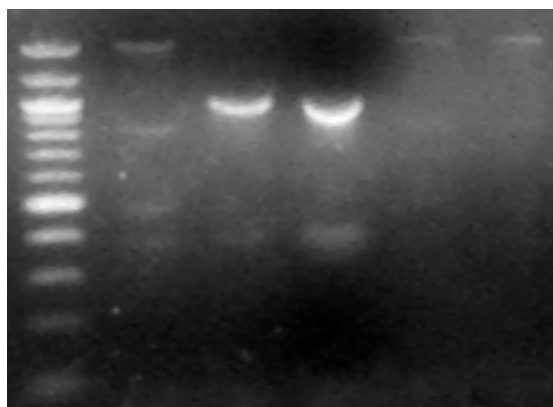
步驟	溫度 (°C)	時間
1	93	1 : 30
2	93	0 : 20
3	48	0 : 30
4	72	1 : 10
5	重複步驟 2~4，30 次	
6	72	5:00
7	結束	

22. 取 PCR 產物 4 ml 與 1 ml 5X loading dye 混合，注入電泳槽中，以 1% 洋菜膠電泳分析。

實驗結果

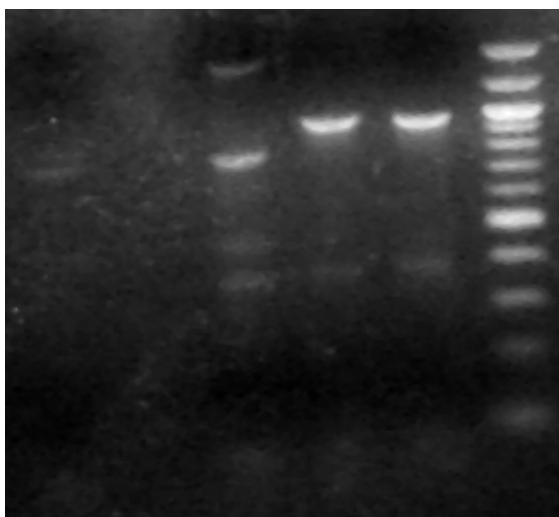
第一組：

M W D D W W



第三組：

W D D



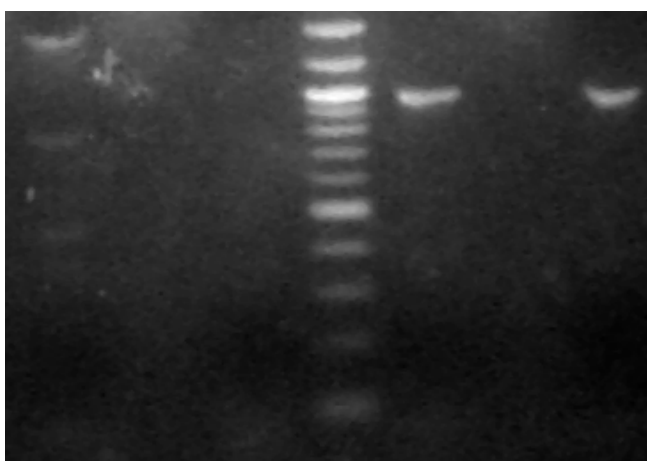
第四組：

W

M

D

D



第五組：

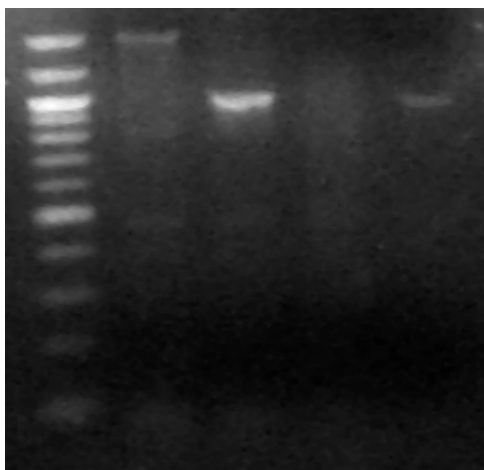
M

W

D

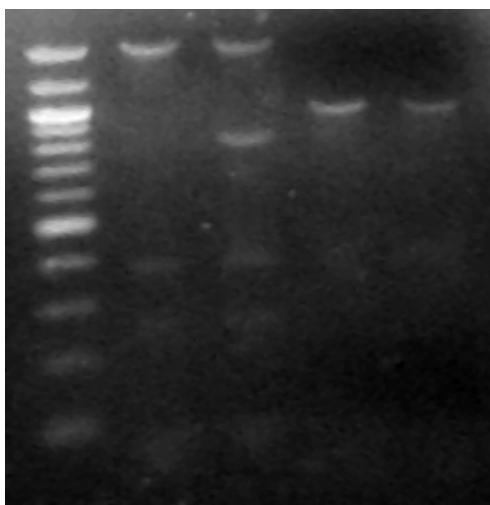
W

D



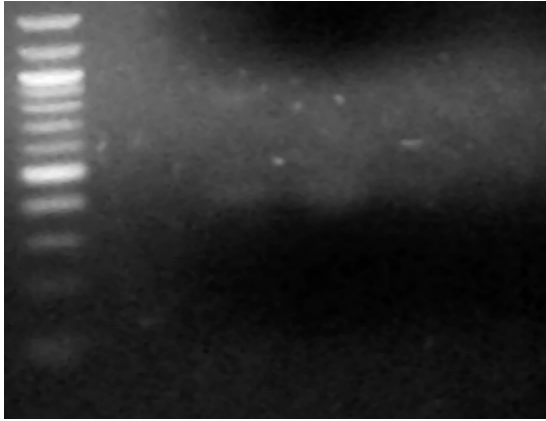
第六組：

M W W D D



第七組：

M W D D



說明：W代表野生型的線蟲，PCR 的結果可以得到較長片段的產物 (cm9 gene)；D 代表 cm9 gene deletion 的線蟲，因此 PCR 所得的產物較短。藉此實驗可得知所做的突變是否成功。

活動完成頒發結業證書：

各梯次全程參與活動之高中老師，我們頒發結業證書一只以資證明。下面是我們結業證書的樣式：



結業證書

茲證明 黃怡瑋 於民國九十三年十二月十一日至民國九十三年十二月十二日共兩天參加九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫表現優異特予結業

特此證明

國立台灣大學生命科學系

代系主任

林讚標

中華民國九十三年十二月十二日

線蟲計畫報名與參加活動之高中老師:

所有欲參加線蟲計畫活動之高中老師均需要連結至本計畫專屬網站上進行報名。報名開始的時間約為各梯次活動開始時間之一個月前。報名結束時間約為活動開始時間前三天，以利活動準備之進行。第一梯次活動報名人數為 54 人，實際完成活動之人數為 48 人。第二梯次報名人數為 23 人，實際活動完成人數為 21 人。第三梯次報名人數為 29 人，實際活動完成人數為 22 人。每位全程參與活動之高中老師我們均頒發結業證書與研習條證明。每次活動參加人數與詳細記錄我們都嚴格控管，以下是三梯次前來參加活動老師之簽到資料：

九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫

第一梯次 簽到表

NO	教師	服務單位	簽到	NO	教師	服務單位	簽到
1-1	1 余慧芸	台北市立大同高中	余慧芸	416	劉國保	台北市立明倫高中	
1-2	2 林利貞	台北市立大同高中	林利貞	17	王昭君	台北市立松山工農	王昭君
1-3	3 陳美蘭	台北市立中山女高	陳美蘭	18	呂宜倩	台北市立松山工農	呂宜倩
8 1-4	4 陳晏如	台北市立中山女高	陳晏如	19	張國楨	台北市立松山工農	張國楨
2-1	5 田依靜	台北市立內湖高中	田依靜	20	邱麗滿	台北市立松山家商	邱麗滿
1-5	6 孫譽真	台北市立北一女中	孫譽真	21	陳婉茹	台北市立松山高中	陳婉茹
1-6	7 許一銘	台北市立北一女中	許一銘	22	吳詩薇	台北市立南湖高中	
1-7	8 陳怡軒	台北市立北一女中	陳怡軒	23	吳雨哲	台北市立建國中學	吳雨哲
1-8	9 薛如娟	台北市立北一女中	薛如娟	24	劉玉山	台北市立建國中學	劉玉山
2-2	10 許適基	台北市立永春高中	許適基	25	朱純育	台北市立華江高中	朱純育
4	11 許美蓮	台北市立成功高中		26	呂淑芬	台北市立華江高中	呂淑芬
2-3	12 陳慧君	台北市立成功高中		27	張雅婷	台北市立華江高中	張雅婷
2-4	13 魏蜀芬	台北市立成功高中	魏蜀芬	28	汪鳳儀	台北市立萬芳高中	汪鳳儀
2-5	14 陳淑紅	台北市立和平高中		29	莊惠芳	台北市立稻江護家	莊惠芳
	15 張春莉	台北市立明倫高中	張春莉	30	張素卿	台北市立麗山高中	張素卿

九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫

第一梯次 簽到表

NQ	教師	服務單位	簽到	NQ	教師	服務單位	簽到
4-3	31	葉芬郁	台北市私立中興高中	6-3	46	簡青紅	國立板橋高中
5-1	32	顏俊雄	台北市私立再興中學	7-1	47	丘孟恩	國立師大附中
5-2	33	黃婉萍	台北市私立延平中學	7-2	48	陳梅珍	國立師大附中
5-3	34	羅淑容	台北市私立東山高中	7-3	49	陳蓓蓓	國立師大附中
5-4	35	傅秋玉	台北市私立金甌女中	7-4	50	謝慧齡	國立師大附中
5-5	36	楊台英	台北市私立華興中學	7-5	51	林慧美	國立基隆女中
5-6	37	曾美怡	台北市私立薇閣高中	7-6	52	楊惠雯	國立基隆女中
5-7	38	王世宗	台北縣立三重高中	7-7	53	江雅萍	基隆市立中山高中
6-1	39	石欣怡	台北縣立永平高中	7-8	54	吳淑惠	基隆市立安樂高中
6-2	40	李品賢	台北縣立安康高中	7			
6-3	41	李小明	台北縣立明德高中				
6-4	42	劉俊安	台北縣立恆毅高中				
8-5	43	何德明	台北縣立海山高中				
6-6	44	王郁蓓	國立板橋高中				
6-7	45	吳雅嵐	國立板橋高中				

九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫

第二梯次 簽到表

NO	小組	教師	服務單位	簽到	NO	小組	教師	服務單位	簽到
1	3-1	鄭有志	彰化縣立二林高中	鄭有志	16	1-2	劉月梅	國立新竹女中	劉月梅
2	3-2	朱秋欣	國立台中一中	朱秋欣	17	1-3	張淳靜	國立新竹女中	張淳靜
3	3-3	許靜婷	台中縣私立僑泰高中	許靜婷	18	2-1	陳李瑄	國立新竹女中	陳李瑄
4	3-4	劉國保	台北市立明倫高中	劉國保	19	2-2	吳玉潔	國立新竹女中	吳玉潔
5	4-1	鄭雅茵	台北縣立金山高中	鄭雅茵	20	2-3	王舒螢	國立新竹女中	王舒螢
6	4-2	劉舜傑	私立全人中學	劉舜傑	21	1-4	丁坤龍	私立衛道中學	丁坤龍
7	4-3	江雅敏	私立明台高中	江雅敏	22	2-4	卓瓊玖	國立仁愛高農	卓瓊玖
8	4-4	劉純如	私立明道中學	劉純如	23	1-5	李貞淑	私立宣聖中學	李貞淑
9	4-5	黃添敏	私立建臺高中	黃添敏	↓				
10	5-1	徐巖泉	桃園縣立振聲高中		5				
11	5-2	陳瓊雯	國立中興高中	陳瓊雯					
12	5-3	楊尚達	國立桃園高中	楊尚達					
13	5-4	楊佩香分	國立彰化仁愛實驗學校						
14	5-5	黃復鄉	國立彰化高中	黃復鄉					
15	1-1	李宏孝	國立新竹女中	李宏孝					

九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫

第三梯次 簽到表

NO	教師	服務單位	簽到	NO	教師	服務單位	簽到
1	黃怡瑋	台北市立中崙高中	黃怡瑋	16	邱伯勤	國立台中女中	邱伯勤 3
2	陳盈君	台北縣立金山高中		17	蘇靜芬	國立台中女中	蘇靜芬 4
2	李嘉烈	私立正義高中	李嘉烈	18	馮淑卿	國立宜蘭高中	馮淑卿 5
3	楊國芳	私立新基高中	楊國芳	19	鄭雅玲	國立宜蘭高中	鄭雅玲 1
4	張韶如	私立慈燈中學	張韶如	20	洪淑芬	國立岡山農工	
5	施俊銘	私立慈燈高中	施俊銘	21	邱永芳	國立花蓮高農	
1	曾文英	私立黎明高中	曾文英	22	廖學瑞	國立虎尾高中	廖學瑞 2
2	蘇友寬	私立黎明高中	蘇友寬	23	周麗芬	國立屏東女中	周麗芬 5
3	莊媛媛	屏東縣立東新國中	莊媛媛	24	蘇雅雯	國立高雄女中	
4	劉若靈	高雄市立三民高中	劉若靈	25	呂佳璇	國立嘉義女中	呂佳璇 4
	梁人文	高雄市立中正高工		26	洪文耿	國立嘉義女中	洪文耿 3
	林怡君	高雄市立楠梓高中		27	黃雋杰	國立嘉義女中	黃雋杰 2
5	江美慧	國立文華高中	江美慧	28	蔡育青	國立嘉義女中	
1	何錦澤	國立台中二中	何錦澤	29	吳衡周	國立嘉義高商	吳衡周 1
2	呂德真	國立台中女中	呂德真				

線蟲計畫策劃活動老師及相關工作人員:

本活動能夠順利的完成，最主要感謝台大生命科學系系主任何國傑教授的全力主辦，另外要感謝台大醫學院教授謝豐舟教授的鼎力協助。此外也要感謝台大生命科學系李心予助理教授對於活動細節的幫忙，最後感謝參與授課的老師李心予老師與吳益群老師。最後還要感謝十四名協助本活動的大小朋友們，其中包括

博士班學生、碩士班學生、以及大學部學生。以下是本活動參與人員的名單與詳細內容：

師資陣容

教師姓名	研究主題	任職單位
何國傑 教授 美國北卡羅萊那大學博士	微生物學、分子生物學 、基因工程、生物技術	台大生科系
吳益群 副教授 美國麻省理工學院博士	細胞凋亡與遷移之分子機制	台大分子細胞所
李心予 助理教授 美國加大舊金山分校博士	水解磷酸脂於內皮細胞之研究	台大動物所
謝豐舟 教授 台大醫學院醫學系	胎兒學、周產醫學、高層次超音波、發育生物學、產前遺傳學	台大醫院婦產部

參與線蟲計畫之工作人員名單：

	姓名	現職	負責工作內容
1	林紀佑	台大動物所博士班學生	總負責人
2	廖嘉駿	台大動物所碩士班學生	協助教學及實驗之進行
3	章齊倫	台大動物所碩士班學生	協助教學及實驗之進行
4	陳家嬋	台大動物所碩士班學生	協助教學及實驗之進行
5	顧家瑋	台大動物所碩士班學生	美工及會場佈置
6	黃鈺婷	台大生命科學系學生	協助活動之進行
7	許之彥	台大生命科學系學生	協助活動之進行
8	陳又綺	台大生命科學系學生	協助活動之進行
9	郭育廷	台大生命科學系學生	協助活動之進行
10	高禎陽	台大生命科學系學生	協助活動之進行
11	蘇亭恩	台大醫院外科研究助理	協助活動之進行
12	林佳璇	台大農化系學生	協助活動之進行
13	謝俊弘	台大生機系學生	協助活動之進行
14	丁楓峻	台大生命科學系學生	線蟲計畫網站維護

線蟲計畫創意競賽實施：

線蟲計畫創意競賽實施之目的，在於了解前來參加本活動之高中老師對於課程內容之理解程度。我們希望藉由來自高中老師投稿之線蟲創意競賽稿件內容，窺知高中老師們對於將線蟲作為模式生物推廣至高中教材之看法，以及目前高中生物老師對於利用線蟲作為重點生物實驗教材的可行性。綜合上述之內容，我們可以根據這些創意競賽之內容作為參考，作為明年舉辦”全國高中線蟲科學展覽壁報比賽”之依據。本次線蟲創意競賽同樣分北中南三階段實施，分別開放三梯次前來參加線蟲計畫之高中老師報名參加。每梯次創意競賽時間開放一個月，也就是每梯次活動結束當天算起一個月後截止投稿。所有稿件經由本活動成立審查委員會，邀約國內生物醫學界權威學者參與審查工作。各梯次分別選出一名優勝及數名佳作作品，並頒發獎狀以資鼓勵。另外再從三梯次所有投稿作品中挑選出總優勝。創意競賽得獎結果於截止收件後一個月在網頁上公佈，並郵寄獎狀給得獎人。各梯次參加創意競賽投稿踴躍，以下為各梯次得獎作品之內容：

創意競賽得獎者名單：

梯次	姓名	學校	題目	得獎
一	楊惠雯	國立基隆女中	河川汙染知多少？ 以線蟲的為指標生物偵測毒河川中的性污染物質	優勝
一	丘孟恩	國立師大附中	線蟲 VS. 桉葉素	佳作
一	陳梅珍	國立師大附中	1.線蟲 VS. 桉葉素 2.光與線蟲之影響	佳作
一	陳蓓蓉	國立師大附中	線蟲 VS. 桉葉素	佳作
一	許迺基	臺北市立永春高中	NGM (Nematoda Growth Medium) agar 中添加不同濃度	佳作

			的四物湯、十全大補湯對野生種線蟲 (<i>C.elegans</i>) 生命週期與族群影響之研究	
二	黃添敏	私立建臺高中	手機電磁波對線蟲孵化、生長與生殖的影響	優勝
三	廖學瑞	國立虎尾高中	利用線蟲檢驗備長炭、竹炭飲用水的安全	優勝

創意競賽審查委員名單:

	姓名	現職
1	謝豐舟	國立台灣大學醫學系教授
2	吳益群	國立台灣大學生命科學系副教授
3	鄭湧涇	國科會科學教育發展處處長 國立台灣師範大學生命科學系教授
4	陳俊宏	國立台灣大學生命科學系副教授

創意競賽得獎者內容:

第一梯次 優勝 國立基隆女中 楊惠雯

河川汙染知多少？

以線蟲的為指標生物偵測毒河川中的性污染物質

一、研究背景

自從工業革命以後，開始大量使用石化燃料和開發自然資源，同時也排放了大量廢氣、廢水和固體廢棄物，造成自然生態平衡破壞。以淡水河為例，九十三年七月台北淡水河獅子頭跳機事件⁽¹⁾，造成每日近百萬噸的生活污水未進入八里污水處理場而直接排入淡水河，其中可能因是含有致癌性的物質（如戴奧辛或是其它環境賀爾蒙等），透過食物鏈的傳遞與層層的生物蓄積與濃縮效應，最後將危害到人們的健康。如近海養殖鮭魚含有高量戴奧辛的事件⁽²⁾等，而台灣河川各種水產品的戴奧辛含量(如圖1)。

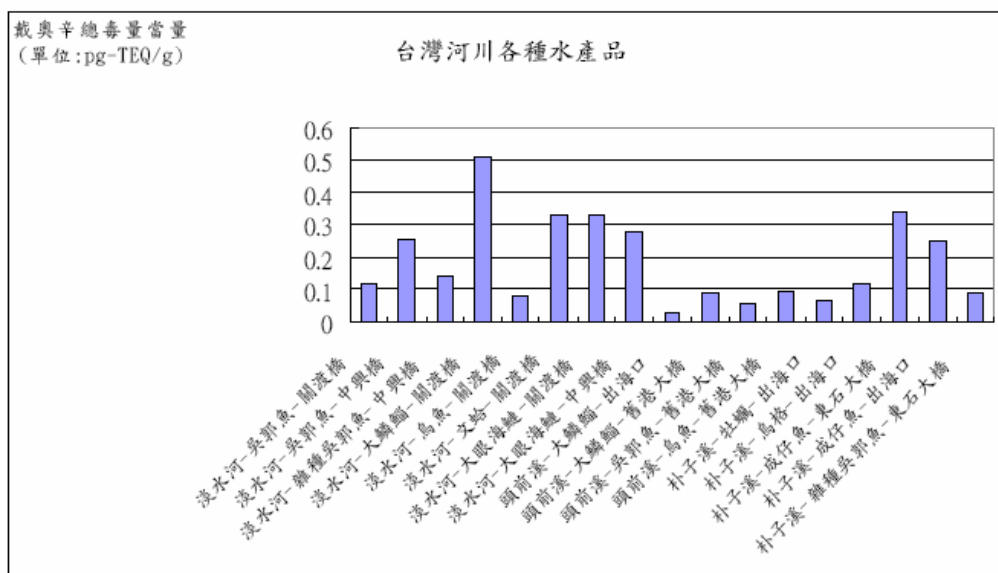


圖1 台灣河川各種水產品的戴奧辛含量，1 pg 等於 10^{-12} g。(原始數據取自環保署網站<http://www.epa.gov.tw/j/dioxin/index.htm>)

TCDD對線蟲P450基因的影響

Cytochrome P450 (CYPs)是一群帶有heme 基質的monooxygenase 酵素蛋白，參與了脂質、固醇類荷爾蒙以及xenobiotics 毒物的氧化代謝工作，並對體內毒物的代謝扮演相當重要的功能。在**基因調控**的分子機制上，眾所周知的2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-*p*-dioxin (TCDD，戴奧辛)透過細胞內的AHR/ARNT 信息傳遞的活化作用，誘導CYP1A1 與CYP1B1 基因的表現⁽³⁾。而在實驗室線蟲可以當很好的生物標示，在低濃度環境毒物的處理下，P450等基因就會被啟動⁽⁴⁾，將來可以用線蟲這種生物模式，來檢測環境是否存在TCDD等其它環境毒物。

在遺傳工程上則使用轉殖線蟲*Caenorhabditis elegans* 為供試生物，含有由*E. coli* 之*lacZ*基因融合至P450，當線蟲遇TCDD壓迫時，使o-nitrophenyl- β -galactopyranoside (ONPG)變成藍色。

二、研究目標

1. 在不同劑量TCDD和重金屬等處理下線蟲的存活率。
2. 低濃度環境毒物的處理下，P450基因等能被偵測到的最低濃度。
3. 田野調查~以線蟲作為生物指標，檢測河川水體中是否含TCDD等有毒汙染物質？使得相關的基因被啟動。

4. 下調 (knockdown) P450基因等，對線蟲外型、產卵率等影響。

三、實驗器材

儀器/材料名稱	功能	儀器歸屬	已有/申購
25°C 恆培養箱			
塑膠培養皿			
酒精燈			
無菌操作			
OP50 strain			
WT 線蟲			
解剖顯微鏡			海洋大學
滅菌器			海洋大學
PCR 機器			海洋大學
DNA polymerase			海洋大學
p10 Pipet			海洋大學
p10 tip			海洋大學
洋菜膠電泳			海洋大學
紫外燈			海洋大學
Na ₂ HPO ₄			5g
挑蟲棒			2~3 支
Cholesterol			

四、研究方法

1. 線蟲飼養

2. DNA 洋菜膠體電泳

依 DNA 的大小決定膠體濃度，本論文中篩選較大分子 DNA 時，用 0.8% 膠體分析，1Kb 以下片段用 1%膠體分析。秤取適量洋菜膠粉末，加入 1×TAE (50×TAE 稀釋 50 倍)微波爐加熱溶解後，置室溫降溫，緩緩倒入鑄膠模 (5.4cm×5.9cm) 中，插上齒模，吸去氣泡。室溫凝固後，再移去齒模，可立刻

使用或放入 1×TAE 中儲存。DNA 樣品加入 1/10 體積 DNA 追蹤染劑，注入洋菜膠體上，以 1×TAE 為緩衝液，在 50~100 伏特電壓下進行凝膠電泳，待追蹤染劑行進至電泳片 3/4 位置（約 5 公分）時，切斷電源，取出膠體以 ethidium bromide（約 0.5 mg/ml）染色約 5 分鐘，在以清水脫色後在 UV 光下看色帶位置，並與 DNA 分子量標幟相比對，判斷 DNA 分子大小及濃度，並照相存檔。

3. DNA 重組接合 (ligation)

(1) PCR 產物之接合

PCR 所得產物 DNA 取大約 25 ng，加入 1μl pGEM[®]-T Easy Vector (50 ng/μl)、5μl 的 2× ligation buffer 以及 1μl T4 DNA Ligase (3 Weiss units/μl)，以無菌之三次水補至總體積為 10μl，於 4℃ 下作隔夜反應或在室溫下反應 1 小時。

(2) 特異性限制酵素之接合

含有特異性限制酵素切點的線狀 DNA 溶液 3μl 加入 1μl vector (同樣含有特異性限制酵素切點之線狀載體)、2μl T4 DNA ligase buffer、1μl ATP 及 1μl T4 DNA ligase，以無菌三次水補至總體積為 20μl，置於 16℃ 下反應隔夜。

4. 質體轉型 (transformation)

(1) 通透性細胞 (competent cell) 製備

自保存菌株中移殖單一寄主 *E. coli* 菌落於 5 ml LB 培養液中，以 37℃ 隔夜振盪培養。第二天，自隔夜菌液中取 80μl 加到 50 ml SOB 培養液中，在 37℃ 振盪培養，菌液量以 OD₅₅₀ 鑑測，當吸光值達 0.45~0.55 時，即可將菌液置冰 10 分鐘，然後在 4℃ 下，以 3,000 rpm 離心 10 分鐘，隨後去除上清液，加入 5 ml TFB 溶液與菌體混合，置冰 10 分鐘，之後在 4℃ 下以 3,000 rpm 離心 10 分鐘。倒去上層液，加入 1,200μl TFB 及 70μl DND 溶液輕混勻，置冰 10 分鐘，再加入 70μl DND 溶液輕混勻，置冰 10 分鐘。

(2) 質體轉型 (transformation)

取 210μl *E. coli* 通透細胞加入 5μl 的重組質體 DNA (recombinant plasmid DNA)，均勻混合，置冰 30 分鐘，隨後在 42℃ 水浴中熱休克 (heat shock) 90 秒，再置回冰上 5 分鐘，隨後加入 0.8ml SOC 培養液(SOB 溶液中加入 20 mM glucose) 均勻混合後，於 37℃ 恆溫振盪培養 1 小時。隨後快速離心菌液 20 秒，去

除上清液，將剩餘些許培養液與菌體重新混合，均勻塗抹於含 Ampicillin 之 LB 培養皿中 (LB/Amp)，置於 37°C 培養箱隔夜培養。

5. 聚合酵素連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction, PCR)

首先添加下列試劑於 0.2ml 微量試管中

5µl	單股 cDNA 溶液
1µl	25mM dNTP
1µl	30µM primer-1
1µl	30µM primer-2
5µl	10× Prozyme buffer
1µl	Prozyme
36µl	H ₂ O

總體積為 50µl，置入 PCR cyciler 中，設定程式，開始反應。

所設定程式為：

Denatural temp	94°C	1min
Annealing temp	55°C	2min
Extension temp	72°C	3min

循環 35 次後停止反應。最後取 10µl 以 DNA 洋菜膠體電泳檢測產物。

6. 重金屬溶液的配製

7. 河水的取樣方法

8. RNAi

五、預期完成之工作項目及成果

日期	預期完成工作	成果
1/20(四)	1. 線蟲基本資料 (Why小兵立大功？線蟲分那四個時期？)。 2. DNA & RNA & 限制酶 。 3. 生物技術protocol(PCR 、RNAi...) 4. 基因調控 。 5. 整理實驗桌(海大)。 6. 記錄每天實驗進度。	
1/21(五)	1. 配藥。 (1) NGM、LB broth M9 buffer	

	(2) 不同濃度梯度TCDD、重金屬等。 2. 滅菌、倒plate、養菌。 3. 區分出性別和不同的發育階段。 4. 如何設計primer? →order primer(CYPs, hsp, metallothionein...)。	
1/22(六)	挑蟲置入各實驗組和對照組中。	
1/23(日)	計算線蟲的存活率&畫出區線圖。 PCR→觀察P450基因等量的變化。 製作gel。 電泳。 田寮河的取樣方法? 採集地點? 挑蟲置入田寮河水的水體中(對照組?)。	
1/24(一)	觀察&記錄24hr後的死亡率 PCR→檢驗那些基因被induce?	
1/25(二)		
1/26(三)	RNAi技術。 Cloning。	
1/27(四)	Cloning。 knockdown線蟲。	
1/28(五)	觀察、記錄knockdown線蟲外觀、反應	
1/29(六)	將knockdown線蟲置入不同濃度的TCDD中。	
1/30(日)	觀察&記錄24hr後的死亡率。	
1/31(一)		
2/ 1(二)		
2/ 2(三)		
2/ 3(四)		
2/ 4(五)		
2/ 5(六)		
2/ 6(日)		

2/ 7(一)		
2/8~11	春節 1. 採集各河川的水體。 (1) 基隆河的上中下游。 (2) 淡水河...。	
2/12(六)	將線蟲放入不同水體中。 整理報告。	
2/13(日)	觀察&記錄24hr後的死亡率。 PCR→檢驗那些基因被induce?	
2/14(一)	開學	

參考文獻

1. www.cy.gov.tw/XMLPost/xml_di/attach/0931900839-1.DOC
2. Hites, R. A., J. A. Foran, D. O. Carpenter, M. C. Hamilton (2004) Global assessment of organic contaminants in farmed Salmon, Science, 303, 226.
3. Whitlock, J. P., 1999. Induction of cytochrome P4501A1. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 39, 103-125.
4. Custodia N, Won SJ, Novillo A, Wieland M, Li C, Callard IP. Custodia N, Won SJ, (2001) Caenorhabditis elegans as an environmental monitor using DNA microarray analysis. Novillo A, Wieland M, Li C, Callard IP. Ann N Y Acad Sci. 948:32-42.

第一梯次 佳作 國立師大附中 丘孟恩、陳梅珍、陳蓓蓉

師大附中生物科學研究競賽

作品說明書

作品名稱：

線蟲 VS. 桉葉素

作 者：丘孟恩、陳梅珍、陳蓓蓉

中華民國九十四年一月

摘要

桉葉素 (cineol) 為植物精油成分之一，尤加利的葉子含有大量有毒的桉葉素，嗜食尤加利樹樹葉的無尾熊可將桉葉素代謝成氧化物以減低其毒性；本次實驗利用線蟲 (*Caenorhabditis elegans*) 測試市售尤加利精油-桉葉素的毒性，記錄桉葉素對不同發育時期線蟲的行為的改變，繪製桉葉素對線蟲的致死率相關圖，以利將來利用線蟲提供生物檢測的目的，並嘗試挑出能對桉葉素毒性抵抗的線蟲。

目 錄

摘要	P.2
一、前言	P.3
二、研究動機	P.4
三、研究目的	P.5
四、研究設備器材	P.6
五、研究過程與方法	P.7
六、研究結果	
七、討論	
八、結論	
九、未來展望	
十、參考資料	
十一、附錄圖表照片	

前言

一、介紹

【桉葉素】

桉葉素為植物次級代謝物，可自多種植物中粹取，為精油的成分之一，像垂尾桉 (*Eucalyptus urophylla*) (謝瑞忠, 1998)、山香 (*Hyptis suaveolens*) (Rivas *et al.*, 2002)、薑黃 (*Curcuma longa*) (Chattopadhyay *et al.*, 2004)，自植物粹取含有桉葉素的精油可做害蟲防制，像山香的精油對農業害蟲-擬穀盜 (*Tribolium castaneum*) 和米象 (*Sitophilus oryzae*) 稍有排斥作用 (Repellency activity) (Rivas *et al.*, 2002)，而桉葉素似乎可使老鼠陷入鎮靜 (sedation) 及運動受損 (motor impairment) 的狀態 (Sayyah *et al.*, 2002)；桉樹葉具有大量的桉葉素 (1,8-cineole)，愛吃桉樹葉的無尾熊 (*Phascolarctos cinereus*)，桉葉素可刺激其肝臟細胞微粒體的tolbutamide hydroxylase活性上升 (Liapis *et al.*, 2000)；而桉葉素在無尾熊體內可藉代謝成以hydroxycineolic acids為主一類的氧化物來減低毒性 (Boyle *et al.*, 2001)，並推測無尾熊代謝桉葉素的高速率可能和其適應尤加利樹葉的飲食習慣有關 (Pass *et al.*, 2001)。

【線蟲】

線蟲(*Caenorhabditis elegans*)屬於線形動物門，肉眼所見僅0.1公分左右，在自然情況下是生活在土壤間水層中。通常具有兩種性別，分別是雌雄同體 (hermaphrodite；XX)和雄性(male；XO)，雄性個體是由於配子形成時X染色體(性染色體)的無分離所造成，自然發生的機率為0.1%。
(<http://biosci.umn.edu/CGC/CGChomepage.htm>)一隻成蟲約可產下三百多個卵，卵細胞在通過儲精囊後即完成授精，受精卵會覆上一層卵殼，受精卵多次細胞分裂變成胚胎，14小時後孵出成為第一期幼蟲(Larva one；L1)，擁有588個體細胞。經過四次蛻皮(L1→L2→L3→L4)變成成蟲，含有959個體細胞。一般而言，在20℃環境下線蟲由受精卵發育至成蟲能產下受精卵所需時間約三天，即生活週期約三天一代，但隨著溫度會有些許變化，如在25℃時約兩天半(台大生命科學系，2004)。

若環境中食物短缺時，L2會進入一個特殊的滯育期以度過惡劣的環境，而L3、L4和成蟲由線蟲的生活史可知，以線蟲作為實驗材料的優點為：一、構造簡單，各發育階段皆可使用解剖顯微鏡來區別；二、繁殖速度快，生命週期約三天，可在短時間培養大量個體進行觀察分析；三、以細菌為食，用簡單的細菌培養基即可培養；四、可以冷凍保存，對於突變品系的保存方便；五、雌雄同體，自體授精，提高維持突變品系的便利性。

【研究目的】

- 1.探討線蟲對桉葉素的忍受能力，建立生物檢測的模式生物。
- 2.篩選能抵抗桉葉素的線蟲，以利將來進一步進行基因方面的研究。

三、實驗設備器材

(一) 儀器

1. 解剖顯微鏡及其光源 3架
2. 無菌操作台 1台
3. 顯微照相機設備 (NIKON照相機和轉接頭) 1副
4. 高溫高壓滅菌器 1台
5. 恆溫培養箱 1台
6. 電子秤 1台
7. 挑蟲棒 5隻

(二) 藥品

NGM(Nematode Growth Medium)

	1L	5L
1. NaCl	3g	15g
2. Agar	17g	85g
3. Peptone	2.5g	12.5g
4. H ₂ O	975ml	4875ml
121°C 滅菌20~30分鐘滅菌後，冷卻至55°C後加入		
5. CaCl ₂	1M 1ml	5ml
6. MgSO ₄	1M 1ml	5ml
7. KH ₂ PO ₄	1M 25ml	125ml
(PH=6.0)		
8. Cholesterol (5mg/ml in EtOH)	1ml	5ml

LB broth (Luria-Bertani)

Tryptone	10g
Yeast extract	5g
NaCl	10g

溶於1公升的二次水
121°C 滅菌20到30分鐘

M9 buffer

Na ₂ HPO ₄	6g
KH ₂ PO ₄	3g
NaCl	5g
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0.25g

溶於1公升的二次水
121°C 滅菌20到30分鐘

大腸桿菌OP50 strain

四、實驗過程與方法

- 1.先配製NGM培養基，選用*C.elegans*此種線蟲，放置20℃恆溫箱中，約一天後觀察其外觀、繁殖速率及繁殖率並紀錄之
- 2.若發現線蟲，則部分轉移至新的培養基上
- 3.在解剖顯微鏡下觀察線蟲的形態特徵，以挑蟲針篩選不同發育時期的線蟲（L0-L4），每時期共分成四盆，每盆10隻。
- 4.取市售尤加利精油-桉葉素（cineol），先檢驗其精油純度是否是達到100%

【檢驗精油純度】

- （1）將精油滴入熱水中，純精油會散成微粒狀，乾涸後不會有黑色黏稠物；而不純的精油，滴入熱水中會成浮油發散狀，而且乾涸後會有黑色黏稠微物
 - （2）將純精油滴在衛生紙上，乾涸後不留痕跡，且持續有原先的清香味道；而不純的精油滴在衛生紙上，會有油漬產生，而且味道很快就揮發消失。
 - （3）可由氣相層析儀檢驗之，由實驗得到的化學層析結果得知其中的組成成分。
- 5.將純尤加利精油之加入基礎油或一些揮發性液體（酒精）進行一連串的稀釋，分別得稀釋濃度為75%、50%、25%、10%
 - 6.將五種濃度的精油（100%、75%、50%、25%、10%）和一組對照組（不含精油）進行實驗，滴加一定量的精油於含各發育時期的線蟲培養基中，記錄精油中的桉葉素對不同發育時期的線蟲的趨性、致死率 and 行為改變。

【培養基的調配】

本次實驗採用乳糖酵母抽出物培養基

- （1）以燒杯取 1L 的水
 - （2）分別以電子秤秤出酵母萃取液【Yeast Extract】0.5g、乳糖 1g，加入燒杯中以小勺子均勻攪拌。
 - （3）將 1L 的溶液分裝至準備好的五個錐形瓶中，每瓶約 200ml
 - （4）將洋菜【Agar】剪成小塊，每小瓶秤 3g 加入，以刮杓拌勻，將剩餘的 agar 碎塊裝入密封的罐子內。
 - （5）以錫箔紙將瓶口密封，放入高溫高壓滅菌器內進行滅菌。（121℃）
 - （6）約 1hr 後將錐形瓶取出，移至無菌操作台。
 - （7）將滅菌完的培養基，一一倒入培養皿中
 - （8）經過一段時間冷卻凝固後，以 PARAFILM 密封，並裝袋放入冰箱中
- 註：需控制其高約為培養皿高度的一半，且倒入培養皿中時，不要產生氣泡

【高溫高壓滅菌器】

- （1）加入約 2L 的水
- （2）將所要滅菌的器具，放入其內，並將其栓緊（氣伐也須關緊）
- （3）按下開關，等待約 1hr，在確定內部壓力和溫度降低之後，才能取出將滅菌器內的水放出，並再裝一次水，再放出，以確保內部清潔

【無菌操作台】

- (1) 以 70% 的酒精擦拭內部各個地方
- (2) 在使用前，開啟 UV 燈（開啟 UV 燈週遭不可有人）
- (3) 使用時，將 UV 燈關閉，並將燈及風的開關打開
- (4) 所有進入無菌操作台的物品，均先經過酒精做消毒
- (5) 在使用完後再次開啟 UV 燈，約一段時間後再將其關閉時，

【種E.coli】

- (1) 開啟無菌操作台，並將已製作完成的培養基從冰箱中取出
- (2) 將酒精燈點燃，放入其內
- (3) 將培養基放入其內，並檢查是否有被其他菌種感染（若被感染則丟棄處理）
- (4) 將接種環以酒精燈加熱滅菌後，以接種環將 E.coli 接種至培養基上
- (5) 重複第四個步驟，直至所有的培養基都接種完成。
- (6) 以 PARAFILM 密封培養皿，並在以奇異筆註明接種日期、接種人
將所有的接種好的培養基裝入袋內，再放置於 25°C 的恆溫箱中。

六、參考資料

台大生命科學系(2004)。九十三年度高中生物技術種子教師培養計畫教材手冊。

Boyle, R; McLean, S; Foley, W; Davies, NW; Peacock, EJ; Moore, B 2001. Metabolites of dietary 1,8-cineole in the male koala (*Phascolarctos cinereus*). Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. Vol. 129, pp. 385-395.

Caenorhabditis Genetics Center. <http://biosci.umn.edu/CGC/CGChomepage.htm>

Chattopadhyay, I; Biswas, K; Bandyopadhyay, U; Banerjee, RK 2004. Turmeric and Curcumin: Biological Actions and Medicinal Applications. Current Science Vol. 87, pp.44-53.

Liapis, P; Pass, GJ; McKinnon, RA; Stupans, I 2000. Characterisation of tolbutamide hydroxylase activity in the common brushtail possum, (*Trichosurus vulpecula*) and koala (*Phascolarctos cinereus*): inhibition by the eucalyptus terpene 1,8-cineole. Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. Vol. 127, pp. 351-357.

Pass, GJ; McLean, S; Stupans, I; Davies, N 2001. Microsomal metabolism of the terpene 1,8-cineole in the common brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*), koala (*Phascolarctos cinereus*), rat and human. Xenobiotica. Vol. 31, pp. 205-221.

Valera, D; Avila, JL; Aubert, L; Alonso-Amelot, ME; Rojas, LB; Usubillaga, A 2002. The essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. and its insect deterrent properties. J. Essent. Oil-Bear. Plants Vol. 5, pp. 126-131.

Rivas, R; Valera, D; Avila, JL; Aubert, L; Alonso-Amelot, ME; Rojas, LB; Usubillaga, A 2002. The essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. and its insect deterrent properties. J. Essent. Oil-Bear. Plants Vol. 5, pp.126-131.

Sayyah, M; Valizadeh, J; Kamalinejad, M 2002. Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole- and maximal electroshock-induced seizures. Phytomedicine Stuttg. Vol. 9, pp.212-216.

師大附中學生生物科學研究 競賽作品說明書

作品名稱：光與線蟲之影響

指導老師：陳梅珍

作 者：馬祖元

中華民國九十四年一月

一、研究動機

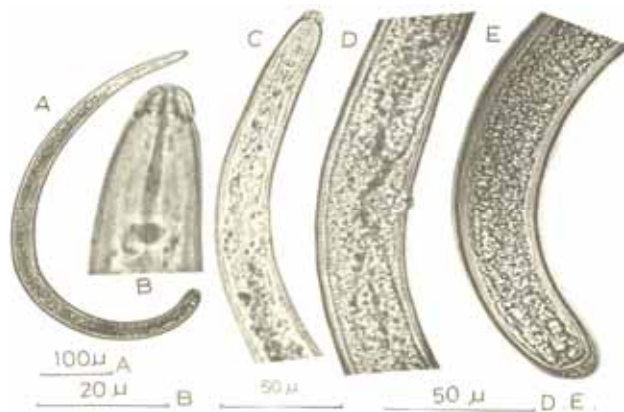
在得知台大有一個這樣的比賽，我覺得這是一個不錯的機會去多多接觸我所感興趣的一方面，也是因為發現原來一個小小的線蟲可以被用來解釋生命是如何老化且未何老化，對於線蟲，很多人都是一知半解，我也不例外，但藉著網路的搜查，我大概了解了其型態，以及生活模式。

線蟲乃營自由生活或寄生生活之蠕蟲，通常為長條形或圓柱形，具消化管，雌雄異體，例外情形不多，生活史短，依種類可分為需中間或寄主不需中間寄主。

一、線蟲之形態

蟲體左右對稱，呈長圓柱形，頭尾兩端尖細。但亦有例外者。如 *Simondsia* 屬之後部為球形，*Tetrameres* 屬之雌蟲於交配後幾乎為球形，呼吸、循環、器官均無。

線蟲之蟲體不分節，但角皮（cuticle）排列多呈環列（肉眼無法見）。有的體表十分光滑，有的具縱行之條紋。角皮厚，襯入口腔和生殖孔四周內側之表層。角皮亦可形成特殊之附著構造如 *Gongylonema* 屬之瘤（wart），*Acuaria* 屬之飾帶（cordon）。和 *Physaloptes* 屬之頭環（cephalic collar）等等。許多線蟲之側端有扁平之突起構造稱為翼（alae）。電子顯微鏡顯示角皮是由外膜（outer membrane）、皮層（cortical layer）、基質（matrix）、和纖維層（fiber layer）所構成，這些構造隨種而有許多變異。



圖

片說明：A 雌蟲 B 頭部與口針 C 體前部 D 陰門 E 體後部

(<http://www.csie.ntu.edu.tw/~piaip/courses/bio/graph.html>)

二、研究目的

動物會有趨性，例如蚯蚓是負趨光性，見到光就閃，而蛾則是正趨光性，飛蛾撲火嘛！所以我想將線蟲是正趨光性還是負趨光性搞清楚，由人類的跛癱症可知光對生命體是有一定的影響，進而探討光對線蟲有無影響

1. 線蟲是正趨光性，再來了解他所趨向的色光是偏紅光或者是紫光，其光波長為多少或者對紫外光或紅外光有沒有生理反應

- 2.將線蟲放置在紅光綠光及藍光下培養，觀察有無不同生理反應
- 3.將其關置在不透光盒中，觀察是否有生理上的變化，例如繁殖率降低
進行一段日子後，在將其放置在光線下培養，觀察是否可恢復正常
- 4.將光線下繁殖的線蟲和黑暗中繁殖的線蟲交配，觀察其後代是否對趨光性有所改變，例如所趨向的光波長有所改變

三、實驗器材

(一) 儀器

器材	個數	用途
培養皿	3	放置線蟲
25.C 恆溫培養箱	1	培養線蟲
無菌操作台	1	避免黴菌細菌或是塵蟎感染
解剖顯微鏡	3	觀察線蟲之動態
滅菌器	1	比滿細菌感染器材
酒精燈	1	過火殺菌用
挑蟲棒	1	挑取線蟲用
可調波長的燈	1	控制光波長以達本實驗目的
不透光盒	1	培養控制組

(二) 藥品

NGM(Nematode Growth Medium)

	1L	5L
1. NaCl	3g	15g
2. Agar	17g	85g
3. Peptone	2.5g	12.5g
4. H ₂ O	975ml	4875ml
121℃ 滅菌20~30分鐘滅菌後，冷卻至55℃後加入		
5. CaCl ₂	1M 1ml	5ml
6. MgSO ₄	1M 1ml	5ml

7. KH_2PO_4 1M 25ml 125ml
(PH=6.0)

8. Cholesterol (5mg/ml in EtOH)

1ml 5ml

LB broth (Luria-Bertani)

Tryptone 10g

Yeast extract 5g

NaCl 10g

溶於1公升的二次水

121°C 滅菌20到30分鐘

M9 buffer

Na_2HPO_4 6g

KH_2PO_4 3g

NaCl 5g

$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0.25g

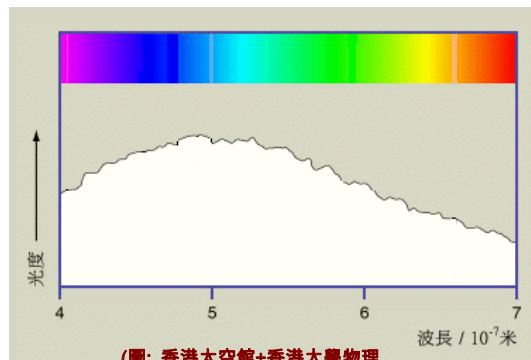
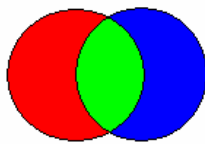
溶於1公升的二次水

121°C 滅菌20到30分鐘

大腸桿菌OP50 strain

四、實驗過程與方法

1. 先配製NGM培養基，選用*C.elegans*線蟲置於培養基，放置20°C恆溫箱培養，約一天後觀察其外觀、繁殖速率及繁殖率並紀錄。
2. 將紅光與藍光投射在含 *C.elegans* 的培養基上。



(圖: 香港太空館+香港大學物理)

3. 經過一段時間後，觀察線蟲所分布位置並記錄其波長。
4. 觀察線蟲在不同色光下的繁殖率及繁殖速率，以及外觀形態和行為模式是否有改變。
5. 另將一些線蟲放置暗盒中培養，經過一天後，觀察其有無異狀，繁殖率及繁殖速率是否相同，是否能存活將其紀錄。
6. 暗盒中的後代重新放置在光線下培養，觀察其對光的敏感度及光波長。
7. 觀察在其生命期間，線蟲是否會恢復原來的數值。
8. 暗盒中的後代與正常的線蟲嘗試交配，得其後代。
9. 上述的後代重複做1—3的步驟，觀察是否有不相同處。

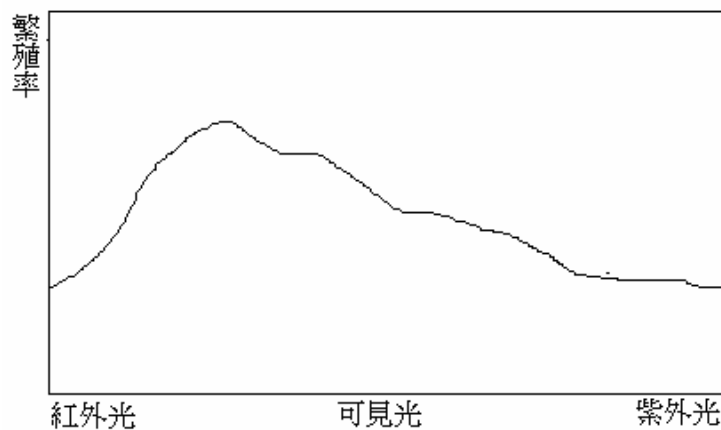
10.別探討不同環境下的線蟲的繁殖率及外觀有無不同。

	體型	繁殖率	繁殖速率
紅光	一樣	較快	較快
綠光	一樣	中等	中等
藍光	一樣	較慢	較慢

五、預設結果

1.線蟲會偏向紅光區，且繁殖率會比在其他色光下繁殖更快

但是一到紅外光區時又會下降，可能原因是微波使線蟲體內水分震動導致死亡



2.線蟲在三種色光下培養的探討

3.暗盒中的線蟲其外觀較小，繁殖率及繁殖速率較小較慢，趨光可能偏向藍光

	體型	生命期	繁殖率	所趨的光
光照下	較大	較長	較高	偏紅

黑暗下	較小	較短	較低	介於綠和藍間
-----	----	----	----	--------

4.暗盒中的線蟲與正常下的線蟲所得後代數值有偏差，證明趨光性與遺傳有關

	體型	生命期	繁殖率	所趨的光
正常之子代	較大	較長	較高	偏紅光
混合之子代	略小	略短	略低	偏綠光

5.探討該使用 L1 或 L4

L1	易受影響，死亡率較高，但可以篩選出適應種 只要能存活下來，就能適應黑暗的環境
L4	影響較小，死亡率不高，但活力降低 雖不易死亡，但不適合做實驗

但是線蟲不照光可能會死，也許是光能誘發線蟲製造一些本身所需的物質，所以L1的幼蟲，受環境影響較大，死亡率比較高，L4則較有適應能力，死亡率則不會很大，以上提出的1-5項均為預估結果，還需做實驗來證明，希望將來能有機會能印證。

第一梯次 佳作 台北市立永春高中 許迺基

利用線蟲（*C.elegans*）為生物模式
作為

高中生物科教學推廣計劃提議書

提議者：許迺基

任職單位：臺北市立永春高中

職務：生物科專任教師

E-Mail：hsue.nike@msa.hinet.net

利用線蟲（*C.elegans*）為生物模式作為高中生物科教學推廣計劃提議

書

計劃目的：推廣利用線蟲為生物模式作為高中生物學科教學與研究，引起學生認識、學習、探討與研究生命科學領域的興趣與能力的養成。

計劃內容：可以分幾個方面來進行

（一）近程方面：透過國內北、中、南與東部地區專責大學或研究機構成立線蟲

研究推廣資源中心，負責種子教師與興趣學生研習訓練、線蟲

種類提供、技術支援與科展競賽等事宜。

（二）遠程方面：要將這種新的生物模式動物介紹給高中學生，最直接方式就是溶入高中教材之中。若以現今高中生物學課程綱要與 95 學年度將要施行新的高中生物學課程綱要分析，實驗課程活動可以利用線蟲為材料，是一條不錯管道。考慮現今高中生物學科教學

基礎生物綱要	高中一年級必修課程（一學期/每週 2 節課）
貳、個體和族群 一、個體與族群 二、族群的特徵 三、族群的變化 四、討論	• 個體與族群的區別與關係 • 出生、死亡率，遷出、遷入率，族群密度，年齡結構，個體生存曲線 • 影響族群密度的因素，閉鎖和開放環境中的族群，族群大小的波動，動態平衡，族群穩定和環境之間的關係 • 討論物種滅絕與保育問題
探討活動 2-1： 族群密度的調查	• 探討不同環境中特定生物之密度
現今活動內容	生態調查為主，對生物的活性、生命力學生較難以了解。

設備，筆者認為以現今課程可以利用部分有：

修改活動內容	利用線蟲繁殖速度快與容易培養的特性設計實驗更可以讓學生了解族群成長曲線、族群密度、族群和閉鎖環境之間的關係。
--------	--

生命科學綱要	高中二年級選修課程（一學年/每週 2 節課）
柒、動物的生殖和遺傳 一、動物的生殖 二、人類的生殖和胚胎發生 三、基因與遺傳 四、人類遺傳學 五、討論 探討活動 7-1： 生殖腺與生殖細胞	• 無性生殖，配子的形成，受精方式，卵生、胎生及卵胎生 • 人類的生殖系統，月經週期，受精與懷孕，胚胎發生的過程 • 基因型，外表型，兩對因子遺傳，機率 • 人類血型、色盲的遺傳，遺傳疾病 • 探討影響胚胎發生的因素（如藥物、放射線等） • 可考慮以牛蛙為實驗材料
現今活動內容	以觀察牛蛙的生殖系統為主（雌雄異體的生物）
增加活動內容	可增加觀察線蟲的生殖系統（雌雄同體或雄體的生物）

而 95 學年度將要施行新的高中生物學課程綱要將線蟲納入活體教材

中（目前草

案已通過），如此更可廣泛讓青年學子認識與接觸到線蟲。筆者認為
以將來新課程可以利用部分有：

普通高級中學必修科目「基礎生物」課程綱要：

高中一年級必修課程（一學期/每週 2 節課）

主題	主要內容	內容說明	備註
二、 生 物 多 樣 性	1.生物多樣性的意義 2.生物的分類 3.病毒與細菌 4.真菌與藻類 5.植物 6.動物 7.討論 8.探討活動 2-1 探討活動 2-2	1-1 遺傳多樣性、物種多樣性、生態系多樣性 2-1 生物的分類系統(原核生物、原生生物、真菌、植物、動物) 3-1 病毒與細菌的形態、構造與繁殖 3-2 病毒、細菌與人類的關係 4-1 真菌、藻類的形態 4-2 真菌、藻類與人類的關係 5-1 蘚苔，蕨類，種子植物 6-1 無脊椎動物 6-2 脊椎動物 7-1 討論使用抗生素的利弊 8-1 真菌和藻類的觀察 8-2 校園生物的觀察	• 不宜涉及細菌的接合現象 • 均不宜涉及生活史 • 藻類部分僅簡介矽藻、綠藻、紅藻和褐藻 • 以 <u>台灣</u> 常見的植物為例，簡介其特性，不宜涉及生活史 • 僅簡介刺絲胞動物、扁形動物、圓形動物、軟體動物、環節動物、節肢動物、棘皮動物
	可增加探討活動內容	2-1 真菌、藻類和線形動物的觀察	可增加線蟲觀察
四、 人 類 與 環 境	1.資源的開發與利用 2.人類對生態環境的影響 3.自然保育與永續經營 4.討論	1-1 人口問題 1-2 人類對資源的利用(土地資源，石化燃料，水資源，生物資源) 2-1 資源過度使用對生態環境的影響 3-1 生物多樣性保育 3-2 生態工法，污染防治(如垃圾減量、資源回收等) 4-1 討論環境污染透過生物累積造成的後果	

	可增加探討活動內容	4-1 環境指標生物線蟲偵測環境污染	利用正常種的線蟲與突變種（抗重金屬：Cd）作實驗用以偵測環境是否受到Cd污染。
--	-----------	--------------------	---

普通高級中學必修科目「必修生物」課程綱要：

高中二年級必修課程（一學年/每週2節課）

主題	主要內容	內容說明	備註
六、動物的生殖和遺傳	1.動物的生殖 2.人類的生殖和胚胎發生 3.基因與遺傳 4.人類的遺傳 5.討論 6.探討活動 6-1	1-1 無性生殖 1-2 配子的形成，受精方式 2-1 人類的生殖系統 2-2 月經週期，懷孕與避孕 2-3 胚胎發生的過程 3-1 孟德爾遺傳法則 3-2 中間型遺傳 3-3 多基因遺傳 4-1 血型的遺傳，性聯遺傳（如色盲的遺傳等） 4-2 遺傳諮詢和遺傳篩檢 5-1 討論影響胚胎發生的因素（如藥物、放射線等） 6-1 生殖腺與生殖細胞的觀察	• 不宜涉及計算 • 觀察切片或標本
	可增加探討活動內容	6-1 生殖腺與生殖細胞的觀察	多以觀察鼠之卵巢與兔之睪丸的切片標本為主。今可增加線蟲生殖系統（雌雄同體或雄體的生物）。

普通高級中學必修科目「必修生物」課程綱要：
高中三年級選修課程（一學年/每週 3~4 節課）。

主題	主要內容	內容說明	備 註
十三、主宰生命奧秘的分子	1.核酸的發現 2.核酸的構造與複製 3.基因與蛋白質的合成 4.基因的表現 5.遺傳工程 6.突變 7.探討活動 13-1 ※探討活動 13-2	1-1 核酸為遺傳物質的發現過程 2-1 DNA、RNA 之化學組成與構造 2-2 DNA 的複製及轉錄 2-3 基因和 DNA 3-1 密碼子與胺基酸 3-2 蛋白質之合成與修飾 4-1 基因表現的調控 4-2 蛋白質活化的管制 5-1 基因選殖，基因擴增， 基因轉殖生物 6-1 突變之形成，引起突變的因子 7-1 DNA 的粗萃取 7-2 聚合酶連鎖反應(PCR)技術及其應用	* 以光碟或錄影帶進行教學，不必實際操作。
	可增加探討活動內容	7-2 聚合酶連鎖反應(PCR)技術及其應用	建議可以利用線蟲為材料之一來製作 PCR 技術及其應用光碟或錄影帶進行教學。

(三) 可作為高中生物科學展覽的實驗研究材料之一：

自從研習會後，帶回一盒線蟲回校展示，並向學生作了簡單介紹後，一部分學生表示了相當興趣，筆者並從中找到四位二年級三類組學生想嘗試以此線蟲為材料從事生物科學展覽研究。想想現今高中學校所擁有相關的設備仍相當貧乏，以敝人服務學校而言，可派上場的設備有光學複式顯微鏡、解剖顯微鏡（放大倍率 30）、高壓蒸氣滅菌器、簡易無菌操作台、恆溫烘箱（免強充當恆溫培養箱）等，是否能建立線蟲操作的基本平台仍無太大把握，但仍願意一試，今提出研究主題如下頁所示：

NGM (Nematoda Growth Medium) agar 中添加不同濃度的四物湯、

十全大補湯

對野生種線蟲 (*C.elegans*) 生命週期與族群影響之研究

前言：

中藥方中的四物湯與十全大補湯都是國人日常服用的藥方與營養補充劑，以往在實驗室中多以小白鼠為實驗對象，經實驗處理後餵食這些湯方或藥劑後，研究其影響與作用的機制。現今想利用線蟲的身體可以直接從環境中吸收物質的特性，將線蟲培養基添加入這些不同濃度的藥湯，觀察對線蟲生命週期與族群影響，藉此有助於了解這些湯方對生物的影響與作用，並嘗試建立線蟲為藥物安全監控生物的可能性。

實驗目的：

利用線蟲 (*C.elegans*) 作為研究的生物模式，來研究不同濃度四物湯與十全大補湯對線蟲生命週期與族群影響，透過研究資料嘗試建立線蟲為藥物安全監控生物的可能性。

實驗材料：

野生型線蟲

6 cm 的 Petri dish (NGM plate)

四物湯

十全大補湯

實驗器材：

解剖顯微鏡 (放大倍率 30)

高壓蒸氣滅菌器

簡易無菌操作台

恆溫烘箱（免強充當恆溫培養箱）

中藥煎藥壺

實驗流程：

1. 以中藥煎藥壺將四物與十全大補的藥物分別依傳統方式煎煮成標準濃度，經雙重過濾、調配成標準濃度、1/10、1/50、1/100、1/500 與 1/1000 標準濃度後滅菌後備用。
2. 按一般 NGM Plate 製作流程，滅菌後放至 55℃ 後，分別加入各濃度的四物湯或十全大補湯（比例為 100：1）。6 公分的 Petri dish 置入 7.5 ml 的培養基備用。
3. 將做好各濃度 NGM plate 各滴入 LB broth（含 OP50 strain 大腸桿菌）0.4ml，均勻塗布在整個 plate 上。
4. 從 NGM plate 中挑選 10 隻約為 L4 線蟲進入實驗 plate 中，置於 25℃ 培養。
5. 觀察並記錄線蟲活動情形、存活率、生命週期、族群出生率與族群密度的變化。
6. 將族群生長情形繪製成族群成長曲線。
7. 比較對照組與各實驗組實驗數據，並分析推論實驗結果。

參考文獻：

93 學年度高中生物技術種子教師培養計畫教材手冊（2004），臺灣大學生命科學系。

科學發展（2004），381 期。

<http://140.122.143.145/poll/>

<http://www.natureasia.com/taiwan/>

<http://www.bio.unc.edu/faculty/goldstein/lab/movies.html>

<http://www.duncan.idv.tw/talk/disc1/0000004d.htm>

<http://3tiger.idv.tw/mvn/mvnforum/viewthread?thread=125>

<http://www.meditalent.com/main2a-4.htm#m3>

手機電磁波對線蟲孵化、生長與生殖的影響!

學生：賴彥君、徐義洋

指導老師：黃添敏

序言

在一個資訊爆炸的現代社會中，手機已成為日常生活中不可或缺的必需品，可是一般民眾卻不知其強大的殺害力，根據外國學者的研究指出無線電波及行動電話電磁波可能會導致細胞基因的變異及不正常的繁殖，如腦癌、腫瘤等。目前雖尚未定論，但許多實驗皆顯示電磁波具有強大的傷害性。

依據澳洲學者實驗指出，他們以 200 隻老鼠做為實驗對象，其中 100 隻有受電磁波照射；另外 100 隻沒有，經過一年以後，老鼠死了，醫生解剖發現腦瘤在出生 9 個月後即以顯現在逐漸增加，顯示大哥大電磁波是具有累積效應。美國華盛頓州立大學兩位醫師(Dr.Henry, Dr.Singh)，延續澳洲之研究，發現老鼠的 DNA 膜，經電磁波輻射 2 小時候就開始分裂。

另外一項實驗證實以 16Khz 的電磁波照射雞的腦細胞時鈣離子會被分離出來，在 2mG 以上的磁場中發生小兒白血病機率將比正常環境多 1.93 倍，小兒肌肉腫傷多 3.26 倍。電磁波對人體哪些部位產生影響？不管電磁波照射人體全部或部份都會因為熱作用的關係使人體全部或部份體溫上升，通常人體內的血流可經由擴散作用排除熱能，但眼球部份很難藉由血流來排除熱能，所以容易產生白內障。

電磁波過敏症(Electrical Hypersensitivity)是指長期暴露在電磁波環境中所造成神經與過敏的一種症狀，其症狀包含：頭痛、眼睛灼熱、頭暈、嘔吐、皮膚疹、身體虛弱、關節疼痛、肌肉疼痛、耳鳴、麻痺、臉部腫脹、疲勞、下腹收縮痛、心律不整、心臟跳動不規則、呼吸困難，另外更嚴重可能會引起中風、沮喪、慌張，並將原有 5% 的致癌因子提升到 95%，長期暴露在電磁波環境中，輕者會引起頭暈目眩、記憶力減退、耳鳴等現象，重者會破壞免疫系統，增加致癌的機率，而對生殖系統所造成的影響，長期接觸超短波發生器的人，可出現男人性機能下降、陽萎；女人出現月經周期紊亂；由於睪丸的血液循環不良，對電磁輻射非常敏感，精子生成受到抑制而影響生育；使卵細胞出現變性，破壞了排卵過程，而使女性失去生育能力。高強度的電磁輻射可以產生遺傳效應，使睪丸染色體出現畸變和有絲分裂異常，妊娠婦女在早期或在妊娠前，接受了短波透熱療法，結果使其子代出現先天性出生缺陷(畸形嬰兒)。電磁輻射的致癌的影響：大部份實驗動物經微波作用後，可以使癌的發生率上升，一些微波生物學家的實驗表明，電

磁輻射會促使人體內的(遺傳基因),微粒細胞染色體發生突變和有絲分裂異常,而使某些組織出現病理性增生過程,使正常細胞變為癌細胞。美國駐國外一大使館人員長期受到微波竊聽所發射的高度電磁輻射的作用,造成大使館人員白血球數上升,癌發生率較正常人為高。

實驗動機

在校刊中看到一則真實案例,國內有人因連續使用手機通話十個小時,結果突然暴斃,另外新聞中報導,瑞典有四人長期使用大哥大,結果造成與慣用耳朵接聽同側的眼角膜潰爛產生血塊,進而造成單眼失明。這些訊息使我們想了解電磁波對於生物體的危害性。

我們觀察調查發現,班上同學們常常互相用手機聊天討論作業,一聊就是二三個小時,卻不知電磁波對生物體的傷害性,行動電話輻射干擾人體之物理效應,雖然電磁波輻射能量較低,不會使物質發生游離現象也不會直接破壞環境物質,但對於到處充滿電子資訊器材的現代生活,其電磁干擾特性,卻不可掉以輕心。

電磁波是否造成生物體的危害,它的危害有多嚴重,引起我們強烈的求知慾,這正是我們實驗的最大動機!雖然電磁波的強度可直接經由測量儀器而得知,但我們想用實驗來得知電磁波對生物實際的影響,而經由生物老師上課時介紹線蟲具有生命週期短,及大量繁殖的特性,可以作為研究電磁波對生物的影響。我們想做這項實驗來了解,是否電磁波會影響生物的生長、生命週期、繁殖能力。

實驗目的

藉由線蟲生理反應和生殖能力,推斷電磁波對於此生物是否具有危害性,或是線蟲不受電磁波干擾的影響,電磁波對於線蟲生長生殖的數據資料可進一步提供手機電磁波對生物體或人類生長的影響。

實驗器材

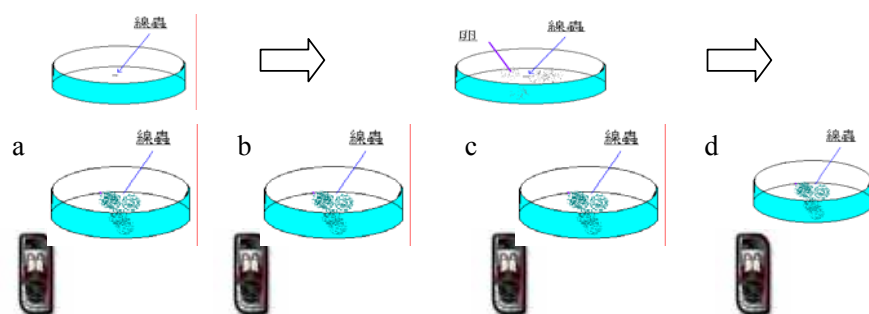
1.線蟲(Caenorhabditis elegans) 2.酵母菌(提供線蟲之食物) 3.行動電話(同品牌手機型號四隻,不同品牌手機4組) 4.測量電波之器材 5.培養皿 6.解剖顯微鏡 7.顯微攝影器材 8.挑蟲針 9.酒精燈(消毒實驗儀器) 10.恆溫箱。

實驗方法

<實驗一>:研究線蟲在各種不同電磁波狀態下,其繁殖數量及生存數量所受影響。

[步驟一]:先培養一隻線蟲,預計第3天產下第一代的卵子,取出其中80顆卵子,將卵子分別放置在a.b.c.d.4個培養皿中(每個培養皿中各20顆卵子),將4隻同款手機[緊貼]於4個培養皿下方。

第一步 先培養一隻線蟲 第二步 培養第3天此線蟲開始產卵



[步驟二]：分為 A.開機組 B.連結組 C.通話組 D.關機組,4 組；兩個培養皿之間以電磁波最低干擾的距離間隔。（以電磁波的儀器測量發現通話中的手機電磁波最強，測量電磁波最低干擾的間隔距離）。

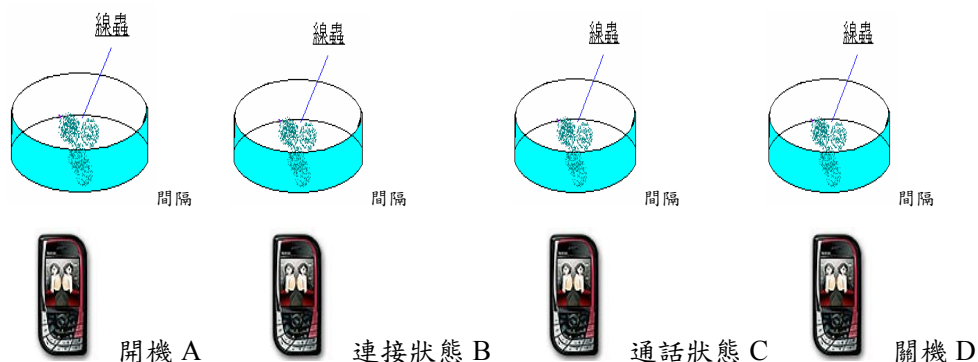
A 組：將 a 培養皿下手機設為開機狀態(待機)。

B 組：將 b 培養皿下方之手機，在 8 小時中施以每 5 分鐘 30 秒的通訊干擾(使手機鈴響,但並未接通)。

C 組：將 c 培養皿下手機 8 小時中施以 3 小時的通話，中間停兩個小時之後再 3 個小時的通話連接干擾(通話中)。

D 組：將 d 培養皿下手機設為關機狀態。

四組同時進行，環境之因子全部相同，一天連續 8 小時並持續 3 天。



[步驟三]：每天觀察各培養皿中線蟲的數量，推斷電磁波對生物生命中各個階段的影響。

(一)觀察電磁波是否對線蟲的孵化產生數量上的影響：連續紀錄三天各組孵化數量，計算各組孵化率。

組別	卵子的數量	第一天孵化數	第二天孵化數	第三天孵化數	孵化成蟲的總數量
A	20 個				X ₁
B	20 個				X ₂
C	20 個				X ₃
D	20 個				X ₄

(二)移走第一天至第三天的各組孵化線蟲，並分別置於新培養皿上，觀察電磁波是否對線蟲的生理產生影響，並繼續觀察線蟲卵子的孵化。

[步驟四]：觀察電磁波是否對線蟲卵的孵化產生了累積效應。

(一)將 A、B、C、D 四組第一代產下的卵各取出一個（共有 16 個卵）孵化的線蟲為第二代，各個卵子持續四種處理，待孵化成線蟲，三天後觀察各組產卵數，每組重複四次。

(二)計算四組的孵化數量。

(三)累積效應繼續五代。

<實驗二> 不同手機機型與不同電磁波處理下，線蟲生長及生殖的狀況。

[步驟一]：利用四種不同品牌的手機，操作實驗一各個步驟，收集資料。

[步驟二]：收集各項資料，分析不同手機對線蟲孵化、生長與生殖的影響。

參考資料：

1. 沈豪，1993，環境科學基本叢書—環境物理，科技圖書出版。
2. 胡漢升，1998，環境科學基本叢書—環境醫學，科技圖書出版。
3. 書館事業服務網站，<http://www.library.com.tw/emf/illness.htm>，什麼是電磁波過敏症？。

利用線蟲檢驗備長炭、竹炭飲用水的安全

前言

自從日本流行使用名為備長炭這種高硬度，不易碎，裂耐火烤的木炭放入引水中浸泡後飲用頗受好評，在食用上還發展出放在電鍋和米一起煮成飯，放入酒內改善風味，放入咖啡或茶，甚至油炸也用的到

這股風潮傳到台灣，市面上賣場都有小包裝 75-100g 不等販售，木頭種類不一進口產地也不同，南投盛產竹子的地區還發展出竹炭等相似產品，這些經過木炭、竹炭浸泡過的水看似飲用沒有大礙，但是偶然間我拿到一些樣本來測 pH 值時發現達到 pH11 以上，而且飲用過不久會有想上大號的情形，這些水到底有何改變？對生物是否有影響？值的去探討

線蟲既然生活在周遭含水量高的環境，對水的敏感度似乎可以作為一種檢測水質變化的實驗生物，於是我們設計了以下幾個實驗，希望能對市售的備長炭、竹炭對人體安全性提供一些參考的資料

方法

1. 利用木炭、竹炭浸泡過的水和對照組觀察線蟲生長差異
2. 作 pH 值、導電度等水質基本測試
3. 將水調成相同的 pH 值或導電度等觀察線蟲生長是否和這些變因有關
4. 觀察線蟲在木炭、竹炭浸泡過的水的環境下是否有基因的額外表現
5. 做人體試飲問卷請願意嘗試的學生將喝過的木炭竹炭浸泡過的水感覺填寫下來分析人體有哪些反應

教學成效與討論

1. 此實驗可以訓練學生無菌操作、藥品配製、滅菌、細菌培養、線蟲培養、理化因子測試、線蟲觀察、問卷設計與調查、資料分析與討論
2. 關於方法 4. 基因的額外表現預計是作 RNA 電泳，將線蟲溶解後跑 gel，從螢光的量簡單推測基因的表現，目前我們完全沒有這套實驗設備，只是先寫出構想
3. 我個人過去從未養過線蟲，所有的技術來自 5/7 5/8 研習得來，目前回到高中尚可將線蟲一代一代培養下來，但有些過程是我自己試作，方法、器材不一定和大學實驗室一樣，是否有機會在暑假時帶著學生再度參觀研究生整個培養過程，或讓學生提些問題？

1.線蟲以細菌為食

那我們是否可挑選危害農作物甚嚴重的某種細菌

探討 c-elegan 和其生活在一起互動之關係

假設 c-elegan 可將其消滅

那是否可運用於農作物的生物防治方面

如此可減少環境污染,減少農藥的使用

2.探討 c-elegan 的生長與環境中土壤 pH 值的關係,找出和有機物含量(碳氮比)是否相關及其耐熱,

耐旱之極限

3 .c-elegan 既然以細菌為食,它對細菌趨向性之探討

它憑藉什麼找到細菌?

創意競賽得獎者獎狀:





獎 狀

茲 證 明 邱孟恩 參 加 九 十 三 年 度
高中生物技術種子教師培養計畫之以線蟲為生物
模式作為高中生物科教學推廣計劃創意競賽
作品 線蟲 VS. 桉葉素 表現優異

榮 獲 佳 作 特 頒 獎 狀 乙 紙 以 資 鼓 勵

特此證明

國立台灣大學生命科學系

系主任

何國傑

中華民國 九十四 年 五 月 六 日



獎 狀

茲 證 明 陳梅珍 參 加 九 十 三 年 度
高中生物技術種子教師培養計畫之以線蟲為生物
模式作為高中生物科教學推廣計劃創意競賽
作品 線蟲 VS. 桉葉素 表現優異

榮 獲 佳 作 特 頒 獎 狀 乙 紙 以 資 鼓 勵

特此證明

國立台灣大學生命科學系

系主任

何國傑

中華民國 九十四 年 五 月 六 日



獎 狀

茲 證 明 陳蓓蓉 參 加 九 十 三 年 度
高中生物技術種子教師培養計畫之以線蟲為生物
模式作為高中生物科教學推廣計劃創意競賽
作品 線蟲 VS. 桉葉素 表現優異

榮 獲 佳 作 特 頒 獎 狀 乙 紙 以 資 鼓 勵

特此證明

國立台灣大學生命科學系

系主任

何國傑

中華民國 九十四 年 五 月 六 日



獎 狀

茲 證 明 許迺基 參 加 九 十 三 年 度
高中生物技術種子教師培養計畫之以線蟲為生物
模式作為高中生物科教學推廣計劃創意競賽
作品 NGM (Nematoda Growth Medium) agar 中添加不同濃度的四物湯、
十全大補湯對野生種線蟲 (*C. elegans*) 生命週期與族群影響之研究 表現優異

榮 獲 佳 作 特 頒 獎 狀 乙 紙 以 資 鼓 勵

特此證明

國立台灣大學生命科學系

系主任

何國傑

中華民國 九十四 年 五 月 六 日



獎 狀

茲證明 黃添敏 參加九十三年度
高中生物技術種子教師培養計畫之以線蟲為生物
模式作為高中生物科教學推廣計劃創意競賽
作品 手機電磁波對線蟲孵化、生長與生殖的影響 表現優異
榮獲 優勝 特頒獎狀乙紙以資鼓勵

特此證明

國立台灣大學生命科學系

系主任 何國傑

中華民國九十四年六月八日



獎 狀

茲證明 廖學瑞 參加九十三年度
高中生物技術種子教師培養計畫之以線蟲為生物
模式作為高中生物科教學推廣計劃創意競賽
作品 利用線蟲檢驗備長炭及竹炭飲用水的安全 表現優異
榮獲 優勝 特頒獎狀乙紙以資鼓勵

特此證明

國立台灣大學生命科學系

系主任 何國傑

中華民國九十四年七月十九日

未來展望與九十四年度計劃實施展望：

透過線蟲計畫活動之圓滿達成，相信參加本活動之高中老師們對於線蟲已經有一定程度之瞭解與見解。我們期望這些高中老師能夠成為本計畫訓練出來之種子教師，藉由本計畫這個播種的動作，將線蟲作為高中生物適合的實驗教材，推廣到全國各地去，明年我們將會把這個成果給實現。於九十四學年度我們將擴大舉辦一個以線蟲當做模式生物來研究的一個科學展覽活動，由這一些種子教師回到他們故鄉去之後，利用與本活動單位密切的配合與溝通，花約一年的時間指導他們的高中學生，由高中老師與學生共同擬定創意科學題目，並且完成科學展覽的內容。在這過程中間，本活動小組將會竭盡所能的提供高中老師必要的協助，以鼓勵他們自由發揮的精神下協助科展的完成。屆時，我們將邀請果內學者共同審評，共同來分享這計畫的成果。以下是我們草擬出明年科學展覽的實施方法：

國立臺灣大學生命科學系主辦全國 高中線蟲科展壁報比賽公告

全國高中線蟲科展壁報比賽辦法

格式化: 項目符號及編號

一、限中華民國之公私立高級中學學生參

加。論文須在生物科教師指導下，個人或團隊的實驗成果，並請指導老師在推薦書簽名見證。

二、參賽者應提送個人所從事與線蟲相關之研究成果論文六份，格式以中研院「動物研究學刊」為依據，內容以中文撰寫

並附摘要，長度不得超過 10 頁（隔行印刷，包括圖、表和參考文獻）。

三、壁報規格：內容必須黏貼在大小適中的硬卡紙上，以便排列在壁報板上（大小為 115(高)×85(寬)公分）。

四、評審委員依據參賽者論文及壁報的創作性、品質及寫作（製作）技巧給予評分，論文及壁報各佔 50 %。

五、比賽時間：壁報展示及評分預訂於五月二十八日（星期六）舉行，參賽者應將教師推薦書及論文於五月二日（星期一）下午 5 點以前，送交台大生科系李心予老師，逾期概不受理。

六、有關論文及壁報書寫格式詳細情形，將公佈於線蟲網站。