

❖ 研究中心簡介

近年來由於動物保護意識高漲，對於啮齒類與其他高等脊椎動物實驗的規範逐漸加強，讓越來越多的國內外學者尋求簡單的脊椎或無脊椎動物作為實驗替代動物模型。有鑑於此，本校生物科技系蕭崇德教授聯合校內外其他科系教授，一同成立水生生物毒理與藥理研究中心，目的是開發斑馬魚及其他水生動物進行化學藥物或奈米粒子的藥理與毒理評價，用以了解藥物或是新興環境污染物的藥理機制與其對生態的可能衝擊。透過校內與校際合作，一來可以拓展研究視野、二來透過團隊力量全盤性研究重要的課題，因此計畫成立本專門研究中心，用以凝聚更多專業人士及資源協助研究之推進。

斑馬魚是研究領域上新興的脊椎動物模型，具有發育快速及易於觀察的優點，目前被廣泛用於研究胚胎發育、訊息分子調控機制以及藥理毒理相關等研究。相較於啮齒類動物模式，斑馬魚胚胎具有透明外觀、體外受精容易觀察、子代數量多與方便進行高通量篩選等優點，可建立評價藥物器官毒性的簡易方法。本中心在過去十多年的努力研究下，以斑馬魚、水蚤與其他相關水生生物模式為模式，已經完成多項研究及科技部計畫，同時也建立起完善的實驗數據分析平台，相關著作論文發表量及品質穩定，已奠定良好的研究基礎。在這樣的較為穩定的研究基礎下，有能力支援校內與校外的科研人員進行研究的合作。在策略上，我們必須積極發展跨領域研究方向，加強與國內各大學化學系、應用化學系及生物科技系等相關系所的交流合作，以有效聚焦校內外師資能量，充分發揮教師專業能量與儀器設備，與校內外專家學者提升整體的研究能量，並積極爭取科技部大型的整合型計畫，以走出本校研究領域發展的學術新藍海。

❖ 研究中心成員

中原大學 生物科技學系 蕭崇德教授 (中心主任)
中原大學 生物醫學工程學系 葛宗融副教授
中原大學 生物醫學工程學系 林政鞍副教授

屏東大學 應用化學系 陳皇州副教授
屏東大學 應用化學系 黃鐘慶副教授
嘉義大學 水生生物科學系 賴弘智教授
中國文化大學 化學系 賴昱衡副教授

❖ 研究合作單位

嘉義大學 水生生物系
文化大學 化學系
義守大學 生物科技學系
義守大學 化學工程系
屏東大學 應用物理系
屏東大學 應用化學系
高雄醫學大學 毒理學程暨藥學系
高雄醫學大學 生物科技系
馬偕紀念醫院 兒童遺傳科
馬偕紀念醫院 血液腫瘤科
力鈞生物科技有限公司
昇等生物科技有限公司
菲律賓聖湯瑪斯大學
泰國 Rajamangala 理工大學 Thanyaburi 分校

❖ 研究內容與方向

心臟與血流生理觀測

運用自行研發的演算法及硬體設備，測定斑馬魚與水蚤的心跳律動、血液流動，並持續改良開發，利用機械視覺 OpenCV 法，取得更加完善且精確的實驗數據，並達成大數據運算自動化。

動物運動軌跡與行為

利用行為學研究設備與追蹤演算技術，配合實驗假說自行設計、製作與配置實驗硬體與軟體環境，利用與人類的基因組具有高度同源性之斑馬魚為動物模式，觀察各樣物質或環境變因是否會對生物行為造成影響。

藥物功能與毒性篩選

利用前述觀測與實驗法，從而直接或間接測試出多種化學及環境物質對實驗生物的生理影響，建立可以評價藥物器官毒性的簡易方法，例如神經毒性、肝臟毒性與心臟毒性。

❖ 可對外提供服務項目

水蚤實驗與檢測

水蚤(*Daphnia sp.*)被公認是研究環境毒理良好的無脊椎模式生物，且具有較大的心臟，容易觀察與定量。以水蚤作為實驗動物，本實驗中心可以提供四項常見檢測：

水蚤胚胎 48hr 急毒性

此項測定是比照 OECD 標準(TG202)，觀察 48 小時內水蚤不移動率(Immobilization rate)，透過公式進行運算可以求出相對應的半致死濃度(LC50 48hr)。

水蚤胚胎對明暗交替運動能力測試

此項測定是利用連續四個明暗交替週期，量測水蚤總運動距離，爆發運動和旋轉等三個主要參數，將相應的活動力進行定量統計，通過數學主成分分析與聚類分析法，可以有效降低數據複雜度，單純擷取出生物意涵。

水蚤胚胎呼吸(耗氧)測試

此項測定使用 Loligo 公司產品進行標準化測試，實驗操作時將水生生物(如水蚤或斑馬魚)胚胎置入 24 孔微盤中，後利用 silicone pad 與 parafilm 進行環境封閉，利用儀器發射藍光 LED 至對氧氣敏感的感測器上，收集散射的紅光，經由數據轉換後可以量測水體中氧氣分壓的改變，進而測得待測生物單位時間內的耗氧量。

水蚤胚胎心跳生理測試

此項測定利用高速攝影機拍攝水蚤心跳，之後可以量測出多種如 Heartbeat rate, fractional shortening (FS), ejection fraction (EF), Stroke volume (SV), cardiac output (CO) 與 Heartbeat regularity 等重要心臟生理指標。

斑馬魚胚胎實驗與檢測

斑馬魚(*Danio rerio*)已被公認是評價環境毒與藥理的良好脊椎動物模式生物，心臟具有一心房與一心室，容易觀察與定量。

斑馬魚胚胎 96hr 急毒性

本項測定是比照 OECD 標準(TG236)，觀察 96 小時內斑馬魚胚胎的死亡率，透過公式運算可求出相對應的半致死濃度(LC50 96hr)。

斑馬魚胚胎心跳生理量測

本測驗利用高速攝影機拍攝斑馬魚胚胎心跳，之後可以量測多種如 Heartbeat rate, fractional shortening (FS), ejection fraction (EF), Stroke volume

(SV), cardiac output (CO) 與 Heartbeat regularity 等重要心臟生理指標。

1. 斑馬魚胚胎血流生理檢測

本測驗利用高速攝影機拍攝斑馬魚胚胎動脈血流，之後可以量測多種如 Maximum, mean, and minimum blood flow velocity 等重要血流生理指標。

2. 斑馬魚胚胎呼吸(耗氧)測試

此測定使用 Loligo 公司產品進行標準化測試，實驗操作時將水生生物(如水蚤或斑馬魚)胚胎置入 24 孔微盤中，之後利用 silicone pad 與 parafilm 進行環境封閉，儀器會發射藍光 LED 至對氧氣敏感的感測器上，之後收集散射的紅光，經由數據轉換後可以量測水體中氧氣分壓的改變，進而測得待測生物單位時間內的耗氧量。

3. 斑馬魚 24 小時胚胎自主擺尾活動力

斑馬魚的胚胎發育到 18-24 小時時，肌肉會發生自主性的擺動運動(Tail coiling)，利用此一現象可以用來篩選評價待測藥物是否具有神經毒性(neurotoxicity)。此測定利用自行編寫的演算法與巨集指令，可以高通量評價斑馬魚胚胎自主擺尾活動力。

4. 斑馬魚胚胎對明暗交替運動能力測試

本測定利用 Viewpoint ZebraBox 裝置，在 48 孔盤中對斑馬魚胚胎每十分鐘進行明暗交替週期(共重複四次)，量測 96-120 小時的斑馬魚胚胎總運動距離，爆發運動和旋轉等三個主要參數，將相應的活動力進行定量統計，通過數學主成分分析與聚類分析法，可以有效降低數據複雜度，單純擷取出生物意涵。

斑馬魚成魚實驗與檢測

斑馬魚(*Danio rerio*)已被公認是評價環境毒理的優良脊椎動物模式生物，

1. 斑馬魚成魚 96hr 急毒性

本項測定比照 OECD 標準，觀察 96 小時內斑馬魚成魚的死亡率，透過公式運算可求出相對應的半致死濃度(LC50 96hr)。

2. 斑馬魚成魚空間探索能力

斑馬魚成魚空間探索能力(Novel tank exploration assay)是一種可以用來評估某化學物質影響魚類緊迫程度的實驗。

3. 斑馬魚成魚鏡子啄食能力

斑馬魚成魚鏡子啄食能力(Mirror biting assay)是一種可以評估某化學物質影響魚類積極度(aggresiveness)的實驗。

斑馬魚成魚天敵躲避能力

斑馬魚成魚天敵躲避能力(Predator avoidance assay)是一種可以評估某化學物質影響魚類恐懼感(fear response)的實驗。

斑馬魚成魚社會互動能力

斑馬魚成魚社會互動(social interaction assay)是一種可以評估某化學物質影響魚類社會互動能力的實驗。

斑馬魚成魚群游能力

斑馬魚成魚群游(shoaling assay)是一種可以評估某化學物質影響魚類社會互動能力的實驗。群游行為可以有效降低斑馬魚的緊迫感，減少被天敵捕食機率。

斑馬魚成魚短期記憶能力

斑馬魚成魚短期記憶能力是改良自齧齒類經典的制約實驗。主要是利用黑白穿梭箱或是T迷宮裝置讓斑馬魚進行左右二向選擇，經由適當電極處罰後，可以在三天內完成斑馬魚的恐懼記憶訓練。本實驗可以用來評價藥物(例如中草藥)是否可以增加斑馬魚學習記憶能力，也可以用來評價環境物質(例如重金屬)是否會降低斑馬魚學習記憶能力。

斑馬魚成魚顏色偏好測試

斑馬魚成魚顏色偏好測試可經由優化的實驗設備與條件，用以評價環境物質(例如重金屬)是否會改變斑馬魚顏色偏好。野生種斑馬魚的顏色偏好為：紅>藍>綠>黃。

斑馬魚成魚皮膚傷口癒合測試

本測定經由優化的雷射實驗設備與條件，可以製造出大小與深度固定的皮膚燒灼傷口，可用以評價藥物(例如中草藥)是否可以增加斑馬魚復原能力。

斑馬魚成魚日夜週期測試

本測定基於自主研發的日夜週期控制裝置，利用對紅外光敏感的相機以程序控制攝影機錄製魚隻在白天與夜間的運動能力。經由優化與自動化的巨集指令，可以用來評價環境物質是否會對斑馬魚日夜週期產生負面影響。

斑馬魚成魚三維空間運動測試

本測定基於自主研發的燈箱與魚缸裝置，利用望遠相機錄製魚隻在三維空間中的運動能力，可用

以評價環境物質是否會對斑馬魚再三維空間的運動能力發生負面影響。設置有45度角架設的反射鏡，可以在一次錄到兩個平面的影像軌跡，再利用程序拼接成每隻魚的三維運動軌跡，相較於傳統二維運動軌跡追蹤法具有更高的準確度。

ELISA 生化指標測試與軟體

1. 斑馬魚 ELISA 生化指標測試

本 ELISA 檢測原理是利用魚類特定抗原專一性抗體固定化在 96 孔盤所形成的三明治法。實驗操作時加入斑馬魚組織萃取液進行呈色反應，再利用減量線進行內插法，可以求出標的抗原的相對含量。本服務試劑盒是由力鈞生物科技公司出品。

2. 斑馬魚 ELISA 試劑盒

ELISA kit 相關研究建議的檢測項目如下：

※神經傳導物質: epinephrine, serotonin, dopamine, GABA, cortisol, melatonin, ACh, AChE

※阿茲海默症相關: ROS, metallothionein, r-secretase, A β 42, p-Tau

※肌耐力檢測: creatine kinase, ATP, CoQ10, lactate, LDH, glucose

※氧化壓力與 DNA 損傷檢測: ROS, MDA, 4-HNE, TBARS, CAT, SOD, 8-OH-dG, ssDNA

※缺氧、發炎與免疫檢測: hif-1 α , myoglobin, TNF- α , IL-1 β , COX-1, COX-2

顯微鏡功能升級(與兆慶公司產學合作)

1. SOPTOP ex20 正立顯微鏡

性價比高的正立顯微鏡機種。(包含 4X, 10X, 40X, 100X 無限遠平場鏡頭與 Abbe 聚光鏡, 以及連接相機的標準第三眼 C 接口)

2. 4K CCD 相機

能以 4K 畫質進行錄影與拍照, 以最高畫質錄影還能維持 30fps 幀率。

3. 聚焦鏡濾片組

一共有 38 枚濾片組, 可使顯微鏡功能增強。(能製造出包含暗視野、斜照光與針孔等功能)

4. 多功能實體顯微鏡組合

能以 4K 畫質進行錄影與拍照, 適合觀察與定量斑馬魚心跳律動, 含有上下光源與 13 吋外接螢幕, 以最高畫質錄影還能維持 30-60 fps 幀率。

❖ 研究中心舉辦之活動

邀請演講系列

—2021.05.03

高雄醫學大學生物科技系 劉旺達副教授
講題《肝臟發育與肝癌-以斑馬魚為模式》



—2021.05.10

中山醫學大學生物醫學科學學系 楊建州教授
講題《斑馬魚在聽力研究方面之應用》



—2021.05.24

成功大學生物科技與產業科學系 盧福翊副教授
講題《胚胎體軸對稱性的決定》
(註：演講遇上 COVID-19 疫情爆發，故採線上會議形式進行)



—2021.09.29

力鈞生物科技有限公司 曾建明總經理
講題《成功利用互聯網進軍歐美與大陸生物科技市場經驗分享》

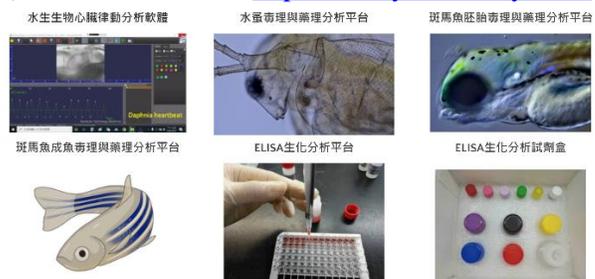


❖ 研究中心近期發表

本研究中心主要研究發表於《Biomolecules》、《International Journal of Molecular Sciences》、《Molecules》、《Environmental Pollution》、《Antioxidants》、《Cells》、《Toxins》、《Biology》等知名期刊。詳細清單請見下列連結 <https://www.researchgate.net/profile/Chung-Der-Hsiao>



❖ 研究中心官方網站 <https://cnt-cycu.weebly.com/>



❖ 粉絲專頁 <https://www.facebook.com/cntcycu/>

