

鑽石計畫維基夥伴獎學金 104學年度第一學期成果報告

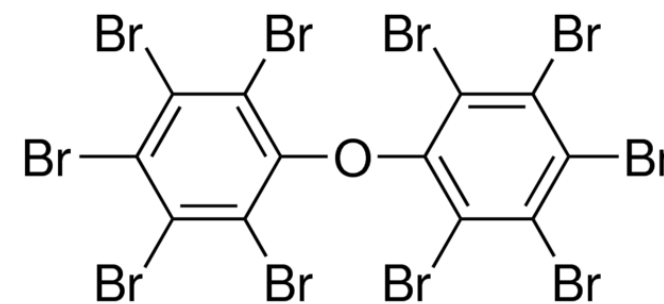
吸附於奈米顆粒的十溴聯苯醚對斑馬魚胚胎之毒理研究

水環境研究實驗室
指導教授：黃志彬 教授
學生：林如樺

Background

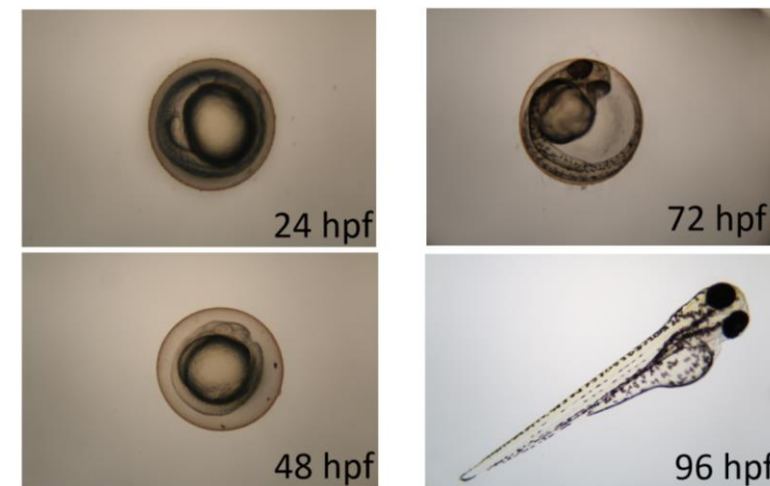
研究目的：了解將斑馬魚胚胎曝露於BDE-209與 $n\text{SiO}_2$ 共存的溶液下，對幼魚產生的毒性影響。

■ **十溴聯苯醚** (Decabromodiphenyl ether-209, BDE-209) 作為阻燃劑，廣泛使用於電器用品或防火材料中，其疏水性的特質使它易吸附於底泥或懸浮微粒之上。



BDE-209化學結構式

■ 近年來奈米顆粒如 **二氧化矽** ($n\text{SiO}_2$)、二氧化鈦 ($n\text{TiO}_2$) 等使用率增加，粒子流布於環境中，提高BDE-209吸附於奈米顆粒上的現象，造成物質濃度局部上升，增加生物接觸的機會進而提高對環境和生物的危害風險。



易於觀察的斑馬魚透明胚胎與幼魚體

■ **斑馬魚** (*Danio rerio*) 是已被廣泛研究的模式生物之一，

Method

■ 流程

促使公母魚追尾後產卵並受精

收集產下的卵之後曝露於測試水樣之中

於七天之後將幼魚收集處理

得到代謝物質後量化分析



公母魚分開飼養於循環養殖系統中，定期添加水質穩定劑及硝化菌，一日投餵飼料兩次，溫度保持約27°C，成魚每7-14天可進行一次交配。

斑馬魚飼養環境

1. 配製待測溶液 (將BDE-209及nSiO₂加入E3 medium中，含有奈米顆粒的溶液需先震盪分散)
2. 取卵約600顆曝露於溶液之中
3. 將死亡的卵挑出
4. 於7日後收取孵化之幼魚



曝露於測試水樣



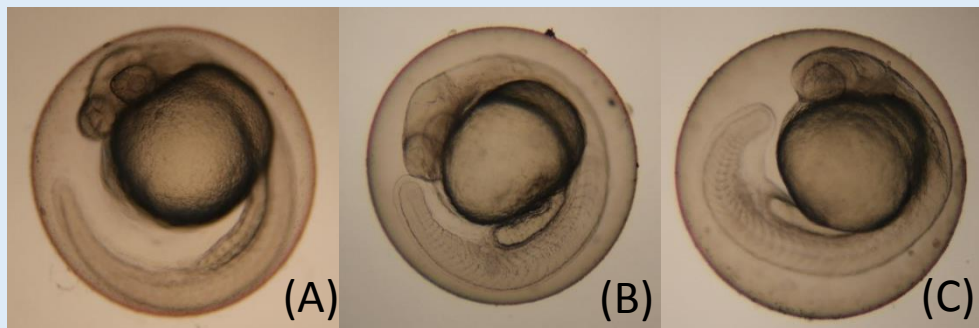
1. 將n隻母魚與n+1隻公魚同置暗室10小時
2. 光照1小時刺激追尾並產卵
3. 將雜質廢物從卵中剔除
4. 使用E3 medium和甲基藍清洗
5. 得可用於實驗的卵

追尾交配與產卵

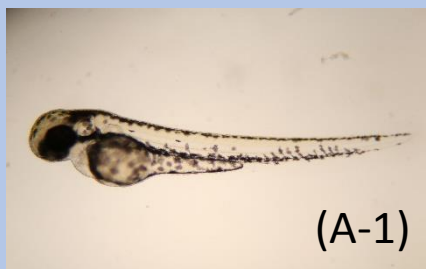
- 胚胎暴露96小時後，觀察其胚胎及幼魚死亡率(48和96小時)、胚胎孵化率、心跳速率(96小時)和畸形狀況(96小時)等。
- 待幼魚暴露7天後，利用有機溶劑萃取魚體內的BDE-209，後續並以GC/MS分析之。

分析

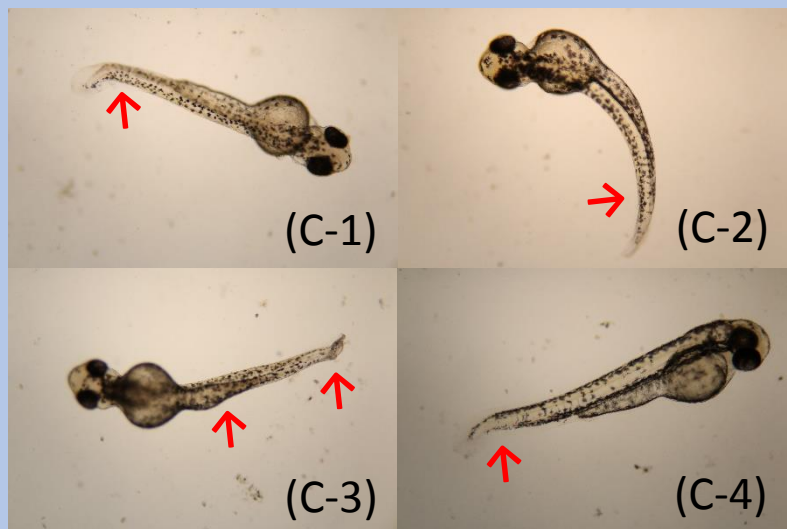
Result



斑馬魚胚胎暴露於實驗水樣經過48小時之後，其胚胎發育之情形。(A)為控制組；(B)暴露於含有100 mg/L BDE-209與100 mg/L $nSiO_2$ 混和溶液中；(C)暴露於含有100 mg/L BDE-209與200 mg/L $nSiO_2$ 混和溶液中。結果發現控制組的發育情形較暴露組稍快，其卵殼較暴露組顏色為淺，原因為奈米顆粒會聚集形成較大的顆粒，在顯微鏡下顏色為深。



(A-1)



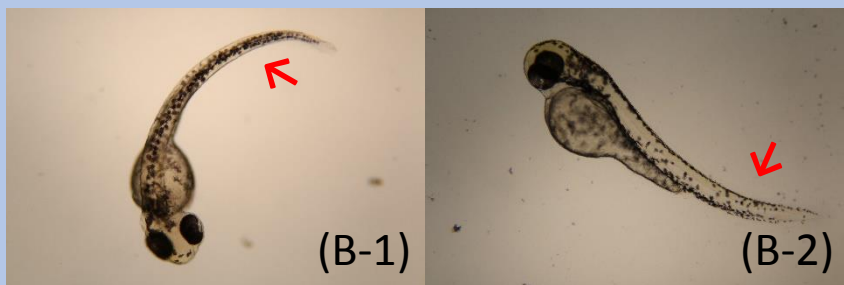
(C-1)

(C-2)

(C-3)

(C-4)

待斑馬魚胚胎暴露經過6天之後孵化的幼魚情形，畸形處以箭頭標記。(A)脊柱正常不彎折，無畸形。(B)較輕微的畸形，脊柱微彎折。(C)較嚴重的畸形，常於接近尾部的的位置有明顯角度的彎折。可以看出當奈米顆粒 $nSiO_2$ 的濃度提升時，會造成較為嚴重的畸形。



(B-1)

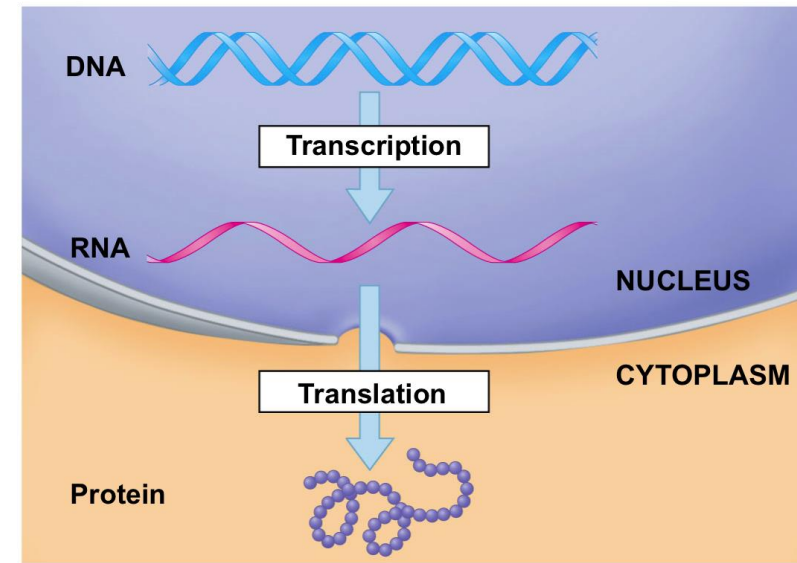
(B-2)

脊椎彎曲的形況可能是因為**肌肉肌縮障礙**或**骨骼發展缺陷**導致，以上兩者皆和神經發展或是內分泌阻斷相關。

Future

■ 已有參考文獻指出，BDE-209可能會影響斑馬魚幼魚神經發育的缺陷，未來將可多關注於：

1. **分子生物**機制，如調控神經發展相關的RNA或蛋白質是否有量的變化。
2. 幼魚的**行為表現** (如泳速) 是否會因神經發展缺陷而變化。
3. 胚胎及幼魚接觸或攝入**毒性物質的方式**為何。
4. 瞭解更多 $n\text{SiO}_2$ 與BDE-209交互作用之後對胚胎發育的影響情形。



© 2012 Pearson Education, Inc.

分子生物學中心法則，RNA及protein的表現將影響細胞至個體之發育生長