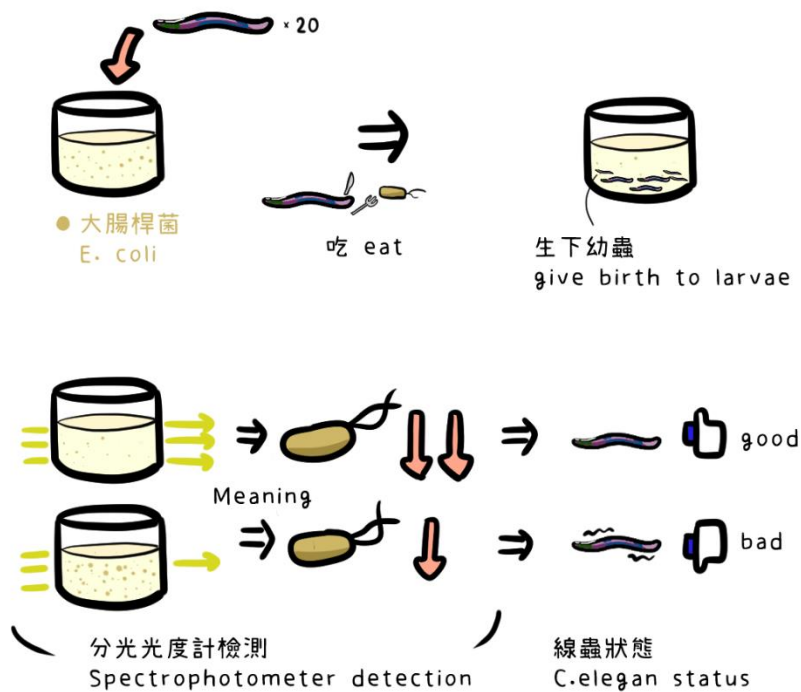


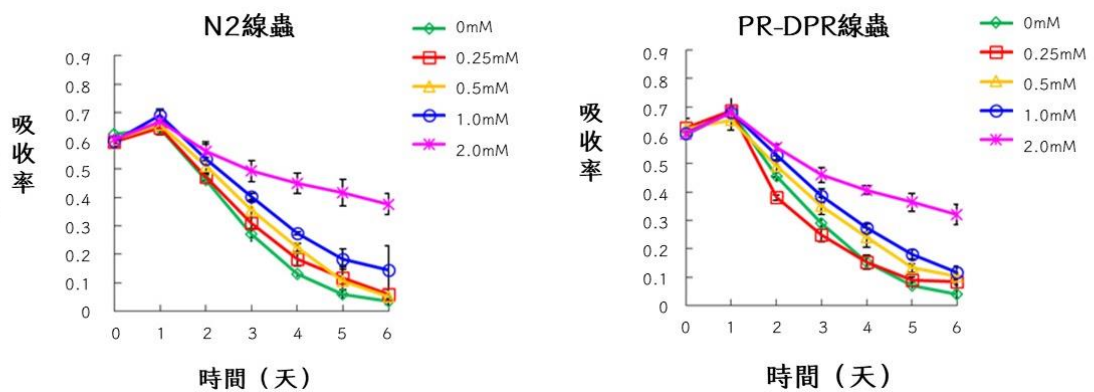
2024 年【科學探究競賽-這樣教我就懂】

普高組 成果報告表單

題目名稱：讓線蟲重新跳起舞來
一、摘要
肌萎縮側索硬化症 (ALS) 是一種致死性的運動神經元退化性疾病，目前無根治方法，已知家族性病因中 <i>C9orf72</i> 基因變異的患者為最大宗，產生脯胺酸-精胺酸二胜肽重複序列 (PR-DPR) 的堆積，導致細胞凋亡。果膠昔元 (Pectolarigenin，簡稱 PLG) 已證實具有抗氧化與抗發炎的功用，因此本研究欲探討 PLG 對於表達 PR-DPR 的秀丽隱桿線蟲是否有改善生存、運動情形等的效用。實驗中發現當 PLG 加入線蟲培養基後，線蟲運動情形改善、壽命也有延長，代表 PLG 有機會成為治療漸凍症的潛在藥物。
二、探究題目與動機
秀丽隱桿線蟲是一個在實驗室中常見的實驗動物，而它具有自己獨立的神經系統、培養方便、生長快速等特點，且已知其基因和人具有高度同源性，所以我們實驗使用線蟲作為實驗對象。漸凍症會引發患者神經的炎症及過氧化物堆積，正好 PLG 做為一具有強大的抗氧化能力的藥物，我們決定在線蟲身上觀察此藥物治療漸凍症的可行性。
三、探究目的與假設
根據先前文獻，已知 PLG 藥物已有強大的抗氧化能力，而漸凍症其中之一的病因也是氧化應激所造成的，因此我們假設 PLG 這個藥物能夠透過自身的化學特性去阻擋秀丽隱桿線蟲 (實驗中模擬漸凍症的動物模型) 的漸凍症症狀，進而調節線蟲運動情形。因此，我們提出一項假說：「 PLG 能夠減緩表達 PR-DPR 秀丽隱桿線蟲的死亡情形及運動障礙。」接著以下方所列的實驗方式進行驗證。
四、探究方法與驗證步驟
在實驗中，我們首先取得野生種線蟲 (N2，作為實驗的對照組) 與含有 PR-DPR 毒性蛋白序列的線蟲 (稱為 PR-DPR 線蟲)，並針對 0.25、0.5、1.0、2.0mM 之 PLG 進行食物清除率實驗，並以 0mM 之 PLG 作為對照組，實驗概念如圖 (一)、實驗結果如圖 (二)。藉由加入不同濃度之 PLG，再利用分光光度計測量大腸桿菌濃度，以了解線蟲的情況。由圖 (二) 可知，不論野生種或變異種，在第一天大腸桿菌濃度會稍微上升，這是因為線蟲尚未繁衍許多後代，因此大腸桿菌濃度稍微上升，然而數天之後大腸桿菌逐漸被線蟲吃掉，濃度下降。然而在 PLG 濃度為 2.0mM 時，線蟲吃掉大腸桿菌的情形變差，我們推測線蟲情況在此時變差，因此在後續實驗中，我們主要使用 0.5 與 1.0mM PLG 進行實驗。

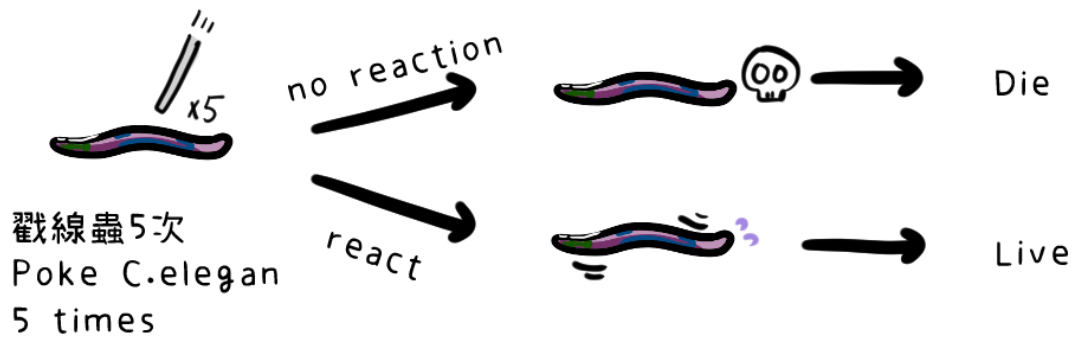


圖（一）、食物清除率示意圖

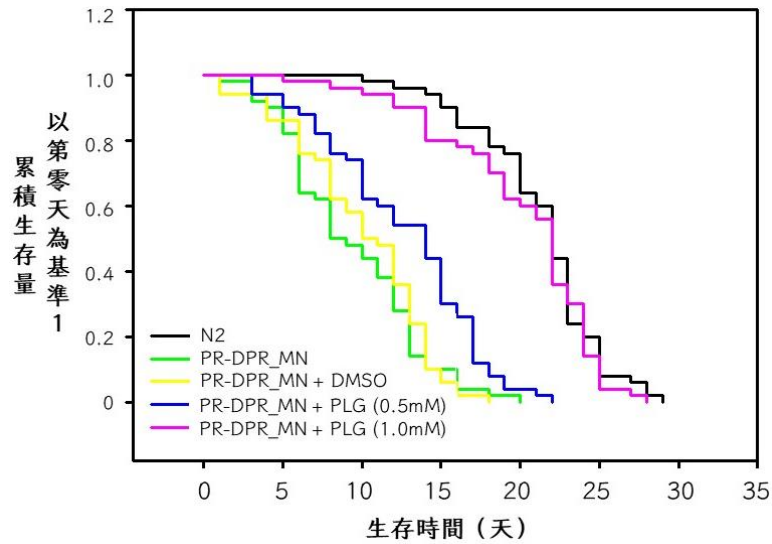


圖（二）、食物清除率結果示意圖

接著我們使用壽命檢測，測量方式為以牙刷刷毛戳線蟲五次。若線蟲有反應，代表線蟲存活，無反應者則是死亡，實驗概念示意圖如圖（三）、實驗結果如圖（四）所示，當 PLG 濃度為 0.5mM 時，其壽命情況開始出現細微改變，而當濃度為 1.0mM 時，其壽命情形已恢復如野生種，代表 PLG 能治療漸凍症線蟲的壽命縮短情形。



圖(三)、壽命檢測示意圖

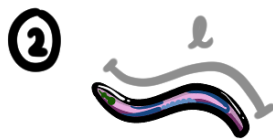


圖(四)、壽命檢測結果



測量線蟲移動距離(A₁至A₂)

Measuring the distance traveled by the C.elegan midpoint



測量線蟲體長(l)

Measuring the length of the C.elegan

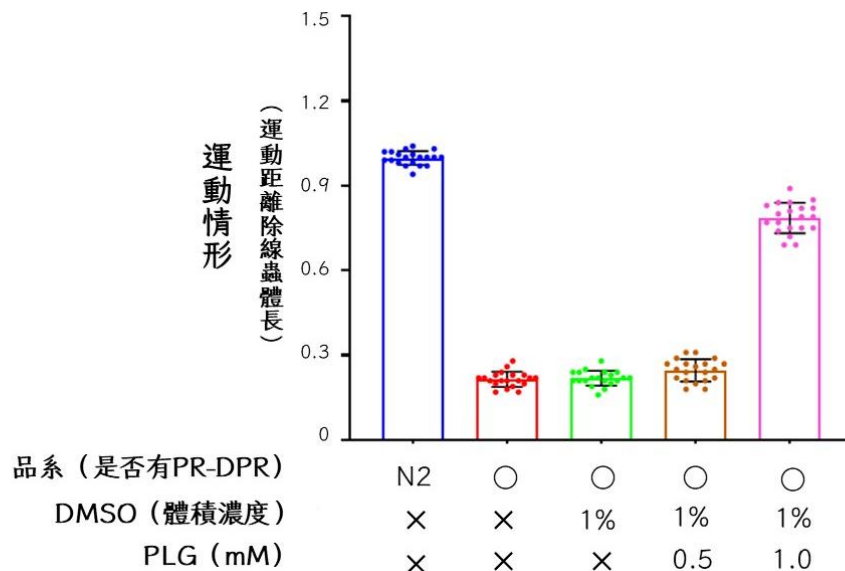
③ $R = \frac{\text{線蟲移動距離 the distance (A}_1\text{至A}_2\text{)}}{\text{線蟲體長 length(l)}}$

計算比值(R)

Calculating ratio

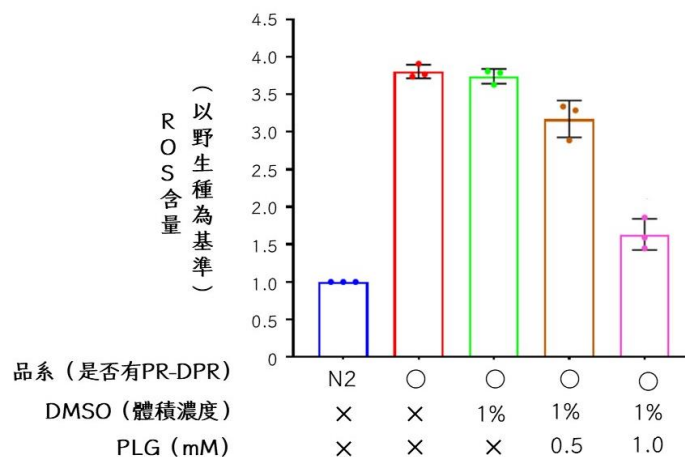
圖(五)、線蟲運動情形檢測示意圖

已知原本正常線蟲運動時身體呈現 S 形，然而漸凍症線蟲運動時會身體僵硬不成 S 形，並且運動的狀況變差。為測量線蟲運動情形是否有因為 PLG 而改善，我們使用線蟲運動情形檢測，首先，紀錄線蟲 30 秒內移動的距離，接著利用 Image J 測量線蟲體長，相除獲得比值，若值越高，代表線蟲運動情形越佳，整體實驗概要如上圖（五）。在做完實驗後，我們發現線蟲加入 1.0mM 的 PLG 後，其運動情形能部分恢復如野生種，代表 PLG 能夠治療漸凍症線蟲的運動障礙，實驗結果如下圖（六）。



圖（六）、運動情形檢測結果圖

最後，我們使用活性氧檢測 (ROS assays) 去了解線蟲體內的活性氧變化。已知 ROS 與漸凍症有高關聯性，漸凍症其一症狀來源即是氧化力強物質過多導致，因此 ROS 的數量可反映 PR-DPR 線蟲的存活情形，當 ROS 量減少時，可知 PR-DPR 線蟲情形改善。較少對於線蟲的存活情形較佳。實驗結果如下圖（七），當 PR-DPR 加入後，線蟲 ROS 含量徒增，然而隨著 PLG 的濃度越來越高，ROS 含量逐漸恢復正常。



圖（七）、ROS 檢測結果

我們觀察了前後線蟲的運動行為、進食行為及壽命變化，發現相較原本正常存活的線蟲，具有漸凍症的線蟲之運動行為及壽命、進食行為等，都受到不少影響，不過在使用藥物治療後，這些情形都趨於平緩接近正常。所以實驗反映出在線蟲模型中，我們的假說得以證實，PLG 具有治療漸凍症的潛力。

五、結論與生活應用

我們的線蟲實驗的結果證實了 PLG 是對 ALS 具有治療潛力的藥物。未來我們希望能藉由更多的實驗及藥物測試來證實 PLG 治療 ALS 的能力並致力將其開發成可讓患者壽命延長更久或者可使 ALS 患者痊癒的藥物，希望在未來，漸凍症患者能夠以 PLG 作為武器戰勝病魔。

參考資料

1. Sullim Lee, Da-Hye Lee, Jin-Chul Kim, Byung Hun Um, Sang Hyun Sung, Lak Shin Jeong, Yong Kee Kim, Su-Nam Kim.(2017). Pectolarigenin, an aglycone of pectolarin, has more potent inhibitory activities on melanogenesis than pectolarin.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28851651/>
2. Elizabeth K. Marsh and Robin C. Maycorresponding.(2012). Caenorhabditis elegans, a Model Organism for Investigating Immunity.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22286994/>
3. 黃柏璋、饒益品 (2007) 。蟲以食為天一線蟲覓食與攝食行為之探討。
<https://www.ntsec.edu.tw/science/detail.aspx?a=21&cat=99&sid=3133&print=1>

註：

1. 報告總頁數以 6 頁為上限。
2. 除摘要外，其餘各項皆可以用文字、手繪圖形或心智圖呈現。
3. 未使用本競賽官網提供「成果報告表單」格式投稿，**將不予審查**。
4. 建議格式如下：
 - 中文字型：微軟正黑體；英文、阿拉伯數字字型：Times New Roman
 - 字體：12pt 為原則，若有需要，圖、表及附錄內的文字、數字得略小於 12pt，不得低於 10pt
 - 字體行距，以固定行高 20 點為原則
 - 表標題的排列方式為向表上方置中、對齊該表。圖標題的排列方式為向圖下方置中、對齊該圖