

第三章 實驗結果



3.1 概述

由之前的研究觀察發現，蜜蜂的營養細胞會與一些神經元的軸突相連接，因此推測營養細胞具有感應地球磁場與信息傳遞的功能。本實驗透過 LSCM 的數位化影像放大技術，觀察營養細胞內鐵顆粒的超順磁鐵是否會受外加磁場影響而膨脹或縮小。另外，藉由觀察鈣離子（一般信息傳遞中重要的二級訊息）在外加磁場下的變化情形，進而探究營養細胞和蜜蜂磁場導航機制的關係。

3.2 磁場作用下營養細胞內鐵顆粒的超順磁現象



LSCM 具有數位化影像放大的功能，可以將倍率由原先光學 600 倍的觀察條件向上提升。本實驗分成三個觀察階段：第一階段的影像未數位化處理，所以倍率依然是 600，圖形的比例尺為 $40\ \mu\text{m}$ ；第二階段是將影像數位化放大 4.5 倍，因此倍率提升為 2,700 ($600 \times 4.5 = 2,700$)，圖形比例尺減為 $8\ \mu\text{m}$ ；第三階段則將影像數位化放大至 24.53 倍，所以倍率一舉提升至 14,718 ($600 \times 24.53 = 14,718$)，圖形比例尺變為 $1\ \mu\text{m}$ 。於是透過數位化影像放大技術，可以將觀察條件由光學顯微鏡晉升為類電子顯微鏡的環境。所以在第二與第三階段

中可以清楚地觀察到營養細胞內的鐵顆粒變化。

3.2.1 處理過鐵氰化鉀的營養細胞

將處理過鐵氰化鉀的營養細胞樣本放置於 LSCM，利用穿透光配合前述三個階段的放大倍率觀察。外加磁場之前，先將三階段的影像紀錄下來，當作對照組；緊接著提供外加磁場 120 秒，時間終了時立刻紀錄另外三個階段的影像，此為實驗組。透過測量對照組與實驗組在第三階段影像中鐵顆粒的變化，來觀察營養細胞內鐵顆粒的超順磁現象。

【圖 3.1】是對照組中三各不同階段的影像，第二與第三階段的畫面是第一階段影像正中央區域的放大結果。【圖 3.2】則是實驗組三階段所有的影像。

【圖 3.3】是對照組第三階段的影像，圖中淺藍色英文字母所標示的是各個觀察到的鐵顆粒。【圖 3.4】則是實驗組第三階段的影像，圖中紅色英文字母標示的鐵顆粒與對照組相同。經過觀察以上兩張圖片，可以發現受磁場作用後鐵顆粒會有形狀與尺寸上的改變，進一步用電腦測量發現實驗組中的鐵顆粒相對於對照組在寬度上縮短約 6.36 %，高度上則增長約 20.86 %。

然而，為了避免是因為整個背景影像改變所造成的現象，所以我們另外選取畫面中空白的部分當作背景值，進而避免因為背景影

像改變所造成的實驗干擾。【圖 3.5】與【圖 3.6】中標示的數字分別代表對照組與實驗組中的空白背景，經過同樣的電腦分析，發現背景在寬度上縮短約 1.96 %，高度上則增長約 8.27 %。

重整上述鐵顆粒與空白背景在受外加磁場作用前後的差異，可以得到鐵顆粒尺寸上的淨變化量：寬度上縮短約 4.4 %，高度上則增長約 12.59 %。

3.2.2 未處理任何藥劑的營養細胞

同 3.2.1 節的方式，改採未作任何處理的營養細胞樣本觀察。

【圖 3.7】是對照組中三各不同階段的影像，第二與第三階段的畫面是第一階段影像正中央區域放大的結果。【圖 3.8】則是實驗組三階段所有的影像。

【圖 3.9】是對照組第三階段的影像，圖中淺藍色英文字母所標示的是各個觀察到的鐵顆粒。【圖 3.10】則是實驗組第三階段的影像，圖中紅色英文字母標示的鐵顆粒與對照組相同。用電腦測量發現實驗組中的鐵顆粒相對於對照組在寬度上縮短約 7.69 %，高度上則增長約 5.74 %。

【圖 3.11】與【圖 3.12】中標示的數字分別代表對照組與實驗組中的空白背景，經過同樣的電腦分析，發現背景在寬度上增長約 4.24 %，高度上則增長 4.59 %。

重整了未處理任何藥劑之營養細胞的鐵顆粒與空白背景在受外加磁場作用前後的差異，可以得到鐵顆粒尺寸上的淨變化量：寬度上縮短約 11.93 %，高度上則增長約 1.15 %。

3.3 磁場對於營養細胞內鈣離子的影響

本實驗是將處理過鈣離子指示劑 (Fluo-4) 的營養細胞樣本置於 LSCM 下觀察，觀察條件為光學 600 倍，激發光波長為 488 nm，利用連續掃描的模式，以該顯微鏡的最短掃描間隔時間 (約 6.523 秒) 連續紀錄八次，總時間約為 45.661 秒。本實驗的變因是外加磁場，所以實驗組的最初 10 秒內未施予外加磁場，10 秒過後隨即提供外加磁場於樣本上直到時間終了。對照組則全然未施予外加磁場。【圖 3.13】是磁場對於鈣離子強度的關係，紅色曲線是對照組，藍色曲線則為實驗組，縱座標是鈣離子螢光強度的百分比，橫座標則為觀測時間。從圖中可以發現觀測 10 秒之後，實驗組與對照組的鈣離子強度百分比開始有明顯的差異，實驗組由 0 秒至終了增加約 6.89 % 的鈣離子強度；反之，對照組減少約 0.74 % 的鈣離子強度。整體而言，在外加磁場作用下，鈣離子在約略 35 秒內 ($45.661 - 10 = 35.661$)，增加了約 7.63 % 的螢光強度。

3.4 細胞骨架抑制劑作用下磁場對於營養細胞內鈣離子的影響

3.4.1 抑制劑 I：秋水仙素

將處理過 Colchicine 與 Fluo-4 的營養細胞樣本放置於 LSCM 下觀察，觀察條件為光學 600 倍，激發光波長 488 nm，以最短掃描間隔時間（約 6.663 秒）連續紀錄八次，總時間約為 46.640 秒，實驗組於開始 10 秒後提供外加磁場於樣本上直到時間終了。對照組則全然未施予外加磁場。【圖 3.14】是 Colchicine 作用下磁場對於鈣離子強度的關係，紅色曲線是對照組，藍色曲線則為實驗組，縱座標是鈣離子螢光強度的百分比，橫座標則為觀測時間。在此圖中實驗組與對照組的差異遠小於單純處理 Fluo-4 的樣本，實驗組由 0 秒至終了減少約 0.35 % 的鈣離子強度；反之，對照組增加約 0.18 % 的鈣離子強度。所以，處理過 Colchicine 的營養細胞即便有外加磁場作用下，實驗組與對照組的鈣離子強度僅有 0.53 % 的差異。

3.4.2 抑制劑 II：太平洋紫杉醇

將處理過 Taxol 與 Fluo-4 的營養細胞樣本放置於 LSCM 下觀察，觀察條件為光學 600 倍，激發光波長 488 nm，以最短掃描間隔

時間（約 6.663 秒）連續紀錄八次，總時間約為 46.640 秒，實驗組於開始 10 秒後提供外加磁場於樣本上直到時間終了。對照組則全然未施予外加磁場。【圖 3.15】是 Taxol 作用下磁場對於鈣離子強度的關係，紅色曲線是對照組，藍色曲線則為實驗組，縱座標是鈣離子螢光強度的百分比，橫座標則為觀測時間。在此圖中實驗組與對照組的差異同樣遠小於單純處理 Fluo-4 的樣本，實驗組由 0 秒至終了減少約 0.27 %的鈣離子強度；對照組減少約 0.47 %的鈣離子強度。所以，處理過 Taxol 的營養細胞即便有外加磁場作用下，實驗組與對照組的鈣離子強度僅有 0.20 %的差異。



3.5 移除磁場作用下營養細胞內鈣離子的影響

由 3.3 節的實驗中，我們發現磁場會促進營養細胞內鈣離子的增加，但是當隨即移除磁場後，營養細胞內的鈣離子又會產生什麼變化呢？為了探討這個問題，我們重新設計以下的實驗：

3.5.1 外加磁場作用 60 秒後的影響

同 3.3 節，將處理過 Fluo-4 的營養細胞樣本置於 LSCM 下觀察，觀察條件為光學 600 倍，激發光波長為 488 nm，利用連續掃描模式，以間隔 60 秒的掃描時間連續紀錄三次，總時間 120 秒。

實驗組在前 60 秒提供外加磁場，之後移除磁場直到時間終了。對照組則全然不提供外加磁場。【圖 3.16】是移除 60 秒外加磁場後對於鈣離子強度的關係，紅色曲線是對照組，藍色曲線則為實驗組，縱座標是鈣離子螢光強度的百分比，橫座標則為觀測時間。由圖得知，實驗組在前 60 秒受到磁場作用下，鈣離子強度增加約 4.48 %，當外加磁場移除後，鈣離子依然有增加的趨勢，到觀測時間終了前鈣離子強度總共增加約 7.45 %。而對照組在前 60 秒受到磁場作用下，鈣離子強度增加約 0.12 %，隨後在移除磁場後鈣離子強度總共增加約 2.24 %。

3.5.2 外加磁場作用 120 秒後的影響

同 3.5.1 節，將連續掃描的間隔時間增長為 120 秒，總時間增長為 240 秒。實驗組在前 120 秒提供外加磁場，之後移除磁場直到時間終了。對照組則全然不提供外加磁場。【圖 3.17】是移除 120 秒外加磁場後對於鈣離子強度的關係，紅色曲線是對照組，藍色曲線則為實驗組，縱座標是鈣離子螢光強度的百分比，橫座標則為觀測時間。由圖得知，實驗組在前 120 秒受到磁場作用下，鈣離子強度增加約 7.35 %，當外加磁場移除後，鈣離子依然繼續增加，到觀測時間終了前鈣離子強度總共增加約 15.75 %。而對照組在前 120 秒受到磁場作用下，鈣離子強度增加約 1.55 %，隨後在移除磁場

後鈣離子強度總共增加約 3.14 %。

3.5.3 磁場對於營養細胞內鈣離子的最大表現量

由 3.5.1 與 3.5.2 得知，營養細胞內鈣離子在移除磁場後仍然有增加的趨勢，於是藉由 3.5.2 的方法，增加連續掃描的次數至 5 次，總時間增為 480 秒，進而觀察營養細胞內鈣離子強度的最大表現量。前 120 秒外加磁場，接著移除磁場，等到第 241 秒開始再外加磁場至第 360 秒，之後移除磁場直到觀測時間終了。【圖 3.18】是磁場對於營養細胞內鈣離子強度的最大表現量，縱座標是鈣離子螢光強度的百分比，橫座標則為觀測時間。由圖得知，營養細胞受外加磁場影響後，其內的鈣離子持續增加，不論外加磁場是否依然存在。一直到第二次移除磁場後（約第 360 秒後），鈣離子強度才趨於平緩，所以營養細胞內鈣離子強度在磁場作用下最大可以增加約 22.60 %。

3.6 磁場對於脂肪細胞內鈣離子的影響

營養細胞往往會與脂肪細胞 (fat cells) 相互連接，所以在實驗樣本中不能完全排除脂肪細胞的存在，因此必須進一步觀察脂肪細胞內鈣離子是否會干擾實驗的結果。本實驗使用的 LSCM 具有圈選影

像的功能，可以把圈選出來的部分區域做個別的螢光強度分析，於是我們將前述三大組實驗資料重新整理，把營養細胞與脂肪細胞區分出來個別分析，進而得到純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子螢光強度的差異。

3.6.1 第 3.3 節中營養細胞與脂肪細胞的差異

【圖 3.19】是磁場對於純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異（實驗組），藍色曲線是原始實驗組，紅色曲線是純粹營養細胞，綠色曲線則是純粹脂肪細胞，縱座標是鈣離子螢光強度的百分比，橫座標則為觀測時間。【圖 3.20】則是磁場對於純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異（對照組），曲線標記的方式同實驗組。

【圖 3.21】是磁場對於純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異，綜合了實驗組與對照組的所有數據，其中三條虛線代表實驗組的三種曲線，剩下的三條實線則為對照組的結果。

3.6.2 第 3.4 節中營養細胞與脂肪細胞的差異

【圖 3.22】是 Colchicine 作用下磁場對於純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異（實驗組），藍色曲線是原始實驗組，紅色曲線是純粹營養細胞，綠色曲線則是純粹脂肪細胞，縱座標是鈣離子螢光強度的百分比，橫座標則為觀測時間。【圖 3.23】則是

Colchicine 作用下磁場對於純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異（對照組），曲線標記的方式同實驗組。

【圖 3.24】是 Colchicine 作用下磁場對於純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異，綜合了實驗組與對照組的所有數據，其中三條虛線代表實驗組的三種曲線，剩下的三條實線則為對照組的結果。

【圖 3.25】是 Taxol 作用下磁場對於純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異（實驗組），藍色曲線是原始實驗組，紅色曲線是純粹營養細胞，綠色曲線則是純粹脂肪細胞，縱座標是鈣離子螢光強度的百分比，橫座標則為觀測時間。【圖 3.26】則是 Taxol 作用下磁場對於純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異（對照組），曲線標記的方式同實驗組。

【圖 3.27】是 Taxol 作用下磁場對於純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異，綜合了實驗組與對照組的所有數據，其中三條虛線代表實驗組的三種曲線，剩下的三條實線則為對照組的結果。

3.6.3 第 3.5 節中營養細胞與脂肪細胞的差異

【圖 3.28】是移除 60 秒外加磁場後純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異（實驗組），藍色曲線是原始實驗組，紅色曲

線是純粹營養細胞，綠色曲線則是純粹脂肪細胞，縱座標是鈣離子螢光強度的百分比，橫座標則為觀測時間。【圖 3.29】則是移除 60 秒外加磁場後純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異（對照組），曲線標記的方式同實驗組。

【圖 3.30】是移除 60 秒外加磁場後純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異，綜合了實驗組與對照組的所有數據，其中三條虛線代表實驗組的三種曲線，剩下的三條實線則為對照組的結果。

【圖 3.31】是移除 120 秒外加磁場後純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異（實驗組），藍色曲線是原始實驗組，紅色曲線是純粹營養細胞，綠色曲線則是純粹脂肪細胞，縱座標是鈣離子螢光強度的百分比，橫座標則為觀測時間。【圖 3.32】則是移除 120 秒外加磁場後純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異（對照組），曲線標記的方式同實驗組。

【圖 3.33】是移除 120 秒外加磁場後純粹營養細胞與純粹脂肪細胞內鈣離子的差異，綜合了實驗組與對照組的所有數據，其中三條虛線代表實驗組的三種曲線，剩下的三條實線則為對照組的結果。

從本節中所有重新區分營養細胞與脂肪細胞差異的圖表中可以發現，純粹脂肪細胞內鈣離子強度的變化趨勢往往比純粹營養細胞來的小。換言之，脂肪細胞受磁場作用的影響較小，並不會干擾前述所有實驗的結果，也表示營養細胞受磁場感應所產生的鈣離子釋放是營養細胞本身的特性，即營養細胞應該具有磁場感應的功能。

