

出國報告（出國類別：研習）

研習化學物質
之高通量生物毒性檢測技術

服務機關：行政院環境保護署環境檢驗所

姓名職稱：顏榮華研究員

派赴國家：美國

出國日期：102年11月1日至102年11月10日

報告日期：103年1月20日

摘要

本次於 102 年 11 月 1 至 11 月 10 日，至出國技術研習之機構為美國奧瑞崗州立大學 (Oregon state university, USA) 的環境健康研究中心 (Environmental Health Science Center) 的 Sinnhuber 水質研究實驗室 (Sinnhuber Aquatic Research Laboratory, SARL) 及美國奧瑞崗大學 (University of Oregon, USA) 的國際斑馬魚資源中心 (Zebrafish International Resource Center, ZFIN)。SARL 是國際性研究斑馬魚知名的環境研究及測試單位，執行環境污染物調查、評估化學品毒性對生物衝擊，在生物測試領域具有領先技術及科學知識。實驗室組織架構包括研究動物 (research animals)、動物空間、繁殖及飼養 (tank space, complete fish husbandry services, standard and custom diets)、胚胎微量注射 (microinjections)、化學毒性暴露 (chemical exposures)、基因轉殖技術 (transgenic production)、研究諮詢及技術轉移等。本次參訪 SARL 目的為研習化學物質之高通量生物毒性檢測技術，內容包括如何飼養實驗生物，魚類飼養用水與再循環利用系統，環境污染物調查及化學品毒性對生物衝擊技術，斑馬魚胚胎化學品微量注射技術，及利用高通量技術及累積毒性研習測試等。SARL 研習過程中除實際參訪實驗室外並實際參與高通量生物毒性檢測研究，藉由實驗過程瞭解美國對於化學品高通量生物毒性檢測流程、實驗室生物毒性分析、及試驗生物馴養等執行方法，供國內之參考。除此之外，多次與研究人員討論美國執行上之問題及國內問題加以分析探討，並藉由其豐富經驗提供建議，以增進國內相關技術之提昇。另一研究中心美國奧瑞崗州立大學國際斑馬魚資源中心 (ZFIN)，ZFIN 是使用斑馬魚測試的重要來源及斑馬魚模式生物數據重要資料庫，實驗室整合斑馬基因庫，並連接到其它機構的基因組序列分析工具以供實驗機構使用諮詢。主要在 ZFIN 研習斑馬魚生物模式技術，馴養用水循環系統，斑馬魚品種育種，不同斑馬基因組成及低溫貯藏斑馬基因庫等。

目次

壹、進修目的.....	5~6
貳、進修過程.....	7~25
參、進修心得.....	25~26
肆、建議.....	27~28
伍、附錄.....	29~30

壹、進修目的

本次主要為研習美國化學物質高通量生物毒性檢測技術，研習之機構為美國奧瑞崗州立大學 (Oregon state university, USA) 的環境健康研究中心 (Environmental Health Science Center) 之 Sinnhuber 水質研究實驗室 (Sinnhuber Aquatic Research Laboratory, SARL；圖 1) 及美國奧瑞崗大學 (University of Oregon, USA) 的國際斑馬魚資源中心 (Zebrafish International Resource Center, ZFIN；圖 2)。SARL 為國際性認可之環境研究及監測單位，具有環境污染物及化學品毒性對生物衝擊領先技術。實驗室組織架構包括實驗動物 (research animals)、實驗動物空間與繁殖 (tank space, complete fish husbandry services, standard and custom diets)、化學品生物毒性測試、胚胎微量注射技術 (microinjections)、化學毒性暴露 (chemical exposures) 及基因轉殖 (transgenic production) 等。另外的機構 ZFIN 為國際性知名的斑馬魚魚種供應中心，提供斑馬魚動物模式，養殖水循環系統及過濾系統、紫外光殺菌處理等、水中含氧量監測及補充，斑馬魚品種育種，及不同基因組成的斑馬種魚種評估，超低溫貯藏斑馬魚基因庫以供各項環境生物研究使用。

本次研習目的期能藉由此次機會，提昇環境毒性生物之飼養及繁殖能力，建立實驗魚種斑馬魚及其胚胎作為毒性測試生物、並用於執行化學品對環境生物毒性及環境污染調查檢測技術及評估技術能力，並為化學物質生物毒性檢測及管理之參考。



圖 1 奧瑞崗大學入口處之招牌



圖 2 ZFIN 入口處

貳、進修過程

研習過程

本次研習日程為 11/1 至 11/10 日，本次主要參訪單位為至奧瑞崗州立大學的環境健康研究中心水質研究實驗室 (SARL) 及國際斑馬魚資源中心 (ZFIN) 研習。他們主要工作包括生物模式之斑馬魚飼養、生物育種及化學品與環境污染物生物毒性調查及研究，並利用高通量儀器設備檢測化學品對魚類生態之影響。SARL 實驗室利用斑馬魚作為生物毒性模型在全球居首先的地位，其人員利用相關先進設施及設備，搭配使用斑馬魚及其胚胎作為水生生物的研究模型，進行環境生物毒性研究。主要流程包括胚胎生產、魚苗孵化、毒性曝露、及行為模式研究等的高通量篩選設施，藉由水質監測模型進行環境醫學研究，也提供各個實驗階段的斑馬魚魚種，飼養技術，化學品暴露技術，轉植基因動物之技術等之協助，並辦理研究數據評估工作。SARL 實驗室的斑馬魚設施是由約 40 名類研究人員所組成，最多可發展到 4,000 條成年的斑馬魚魚種的容量。以斑馬魚作為研究，是可調控不用突變體和轉殖基因，使斑馬魚具有實驗需求獨特性，再進行環境毒性測試的實驗。除了原先已馴化的魚種實驗外，也有執行野生的斑馬魚種的淨化處理獨立馴養機制，以確認野生魚種純化。SARL 研究範圍包括(1) 急性毒性(Acute toxicity test)測試標準方法之建立；(2)急慢性毒性(Chronic toxicity test)測試標準方法之建立；(3) 化學品風險評估；(4) 化學品生物影響評估(Bio-availability)；(5)魚類之敏感性評估(Sensitivity evaluations)；(6)魚類毒性測試評估；(7) 斑馬魚類之繁殖。水質研究實驗室(如圖 4)，

負責人是 Robert Tanguay 博士(如圖 5)， 國際斑馬魚資源中心，主任是 Zoltan Varga 博士 (如圖 6)，



圖 4 SARL 研究人員



圖 5 Robert Tanguay 博士



圖 6 Zoltan Vargal 博士

本次參訪之內容包括與 Robert Tanguay 博士及 Zoltan Varga 博士討論化學物質之高通量生物毒性檢測技術研習內容如下：

以斑馬魚及其胚胎的生物研究模型，提供動物的調查（例如，完整的有機體，功能穩定的反饋機制和細胞間信號）與細胞培養的便利性（例如，電力成本和時間效益，較少的基礎設施）。該模型系統可以快速的執行化學物質暴露反應，化合物的高通量篩選的機制，並可廣泛的收集各項物質影響評估。提供具有針對毒性作用機制的理想平台，減小實驗使用空間，如可以在 96 孔盤內執行各種毒性濃度的暴露評估。斑馬魚胚胎具有透明性質，可以針對許多形態，發育和行爲部份可以不需要執行侵入性測試以進行評估。

一、試驗生物飼養

測驗生物為斑馬魚 (*Danio rerio*)，試驗生物及飼養情形如圖 7a-j。斑馬魚體長只有

3-4 公分，最大約 5 公分，體紋與真正的斑馬相似，有藍白相間的條紋，但與斑馬不同的是，斑馬魚的條紋是水平的。在適當的環境下，斑馬魚在攝氏 24°C 以上容易產卵，同時產期無季節性，可利用人為調控光週期方式使雌魚產卵，每次胚胎產出可達數百顆。每次產卵只需隔 3-6 天。在 28°C 條件下，受精卵 2-3 天即可孵化，3 個月便能達到成魚。斑馬魚是易於取得且操作方便，因此其魚卵常被生物學家做為胚胎實驗的對象，在基因轉殖實驗上的優點包括；胚胎卵膜透明、卵黃囊位於中央易於辨識、生長期短等。飼食方式以較多樣性的食物可使斑馬魚維持在一個較健康的繁殖情況。孵化後 4-7 天的幼魚可以草履蟲當初期的餌料，第 10 天可開始飼食剛孵化之豐年蝦，約 45 天後，即可以大的豐年蝦飼食。成魚每天至少早、晚飼食大的豐年蝦。每日每缸斑馬魚均需做 2 次以上投餵。



圖 7a 胚胎



圖 7b 斑馬魚飼料

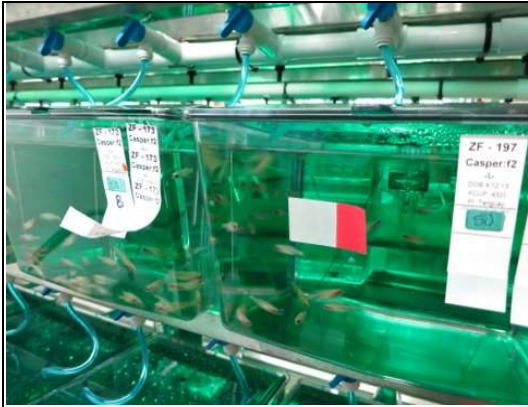


圖 7c 班馬魚飼養試驗情形 1



圖 7d 班馬魚飼養試驗情形 2



圖 7c 班馬魚飼養試驗情形 3



圖 7d 班馬魚飼養試驗情形 4

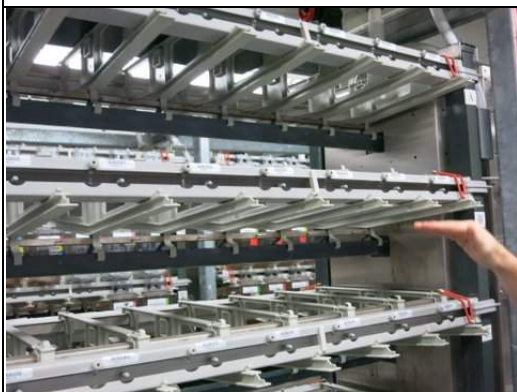


圖 7e 班馬魚飼養裝置管線 1



圖 7f 班馬魚飼養裝置管線 2



圖 7g 班馬魚飼養裝置管線 3



圖 7h 班馬魚飼養裝置管線 4

二、試驗斑馬魚胚胎高通量技術

如何大量獲取魚胚胎，將斑馬魚魚種（公母比例約 1:3）依比例放入大型飼養桶內，試驗斑馬魚胚胎產出流程(如圖 8a-f)，斑馬魚成魚被保存在一個固定的光暗週期（約光照 14 小時，黑暗 11 小時）貯育桶。通常斑馬魚的習性會在曝氣範圍游動，若隔天需要大量胚胎收集時，則將曝氣範圍縮小至漏斗上方的範圍，斑馬魚就會在曝氣範圍內的區域游動，當飼養桶內小燈亮起，斑馬魚感到興奮，雄魚追逐雌魚，刺激雌魚產卵，雄斑馬魚精子排放到水中，雌斑馬魚排放卵，受精卵在水中結合，胚胎會沉到容器的漏斗底部彙集處，在放置漏斗時水面不可高於網面太高，產下的卵能夠迅速的沉入網底跟原親魚分開，如此胚胎不易被成魚吃掉，貯育桶安裝有連通管連接到漏斗底部彙集處，取胚胎時扭開貯育桶外側收集盒，每次大約可以產出 400 顆以上的卵，足以供應試驗之所需量。



圖 8a 斑馬魚貯育桶



圖 8b 放置收集漏斗 1



圖 8c 放置收集漏斗 2



圖 8d 放置收集漏斗及曝氣管線 1



圖 8e 放置收集漏斗及曝氣管線 1

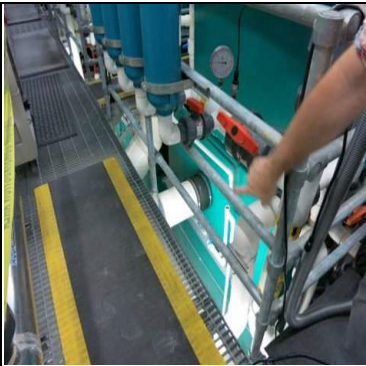







圖 8f 貯育桶外側收集盒

三、試驗水循環系統

試驗用水系統採用 ASTM (2001a,b) 及 USEPA (2000) 標準試驗用水，試驗用水是使

用河水及 RO 過濾水配置而成，並以大型儲存桶存放（圖 8a-c），進入測試系統前再經過離子交換系統及過濾系統（圖 8d,e），最後依不同需求配管線直接使用（圖 9f）。依照 ASTM (2001)及 USEPA (2000)進行毒性測試時之規範，試驗用水可使用井水、表面水等，由於試驗用水之品質會影響毒性試驗之結果，因此，品質好、穩定且操作方便之試驗用水供應系統是最基本且最重要之一環，SARL 為維持試驗供水之品質，由專人負責此項工作，目前本所採用之試驗水是自來水經過濾、離子交換樹脂及活性炭管柱處理後，之後再經流入小型曝氣槽後提供用水，其符合規範並且目前測試良好。

		
圖 9a 井水抽水系統	圖 9b RO 過濾系統	圖 9c 大型儲存桶
		
圖 9d 離子交換樹脂	圖 9e 過濾系統	圖 9f 不同需求配管

四、化學品的毒性測試系統

SARL 率先使用斑馬魚應在環境毒性評估研究。研究範圍包括原油類洩漏如何對魚類產

生不利的生存條件；農藥如何損害魚類的腦部發育及導航能力；鑽油平台漏油如何影響墨西哥灣上海洋物種的健康(圖 10a-d)。SARL 目前參與美國環境保護署（EPA）對化學品應用在上萬種消費產品之毒性評估探討研究，並證明斑馬魚受特定化學品影響後，基因的反應表現，甚至如何造成斑馬魚身體的影響。由於基因在發育初期對化學品特別敏感，因此評估發育初期的魚及胚胎如何受到不同化學品種類及濃度的影響，發展出評估化學品如何影響環境生物毒性模式。

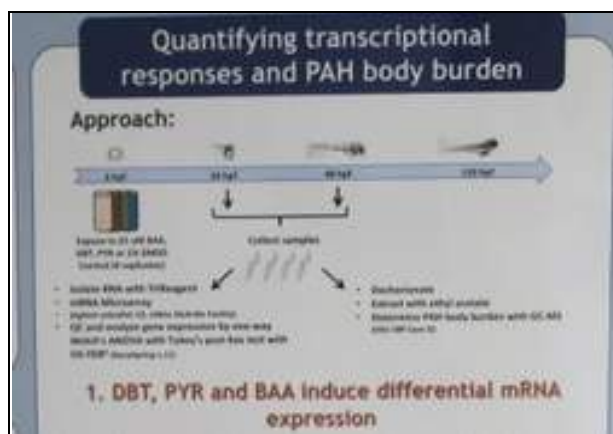


圖 10a 化學品毒性測試 1

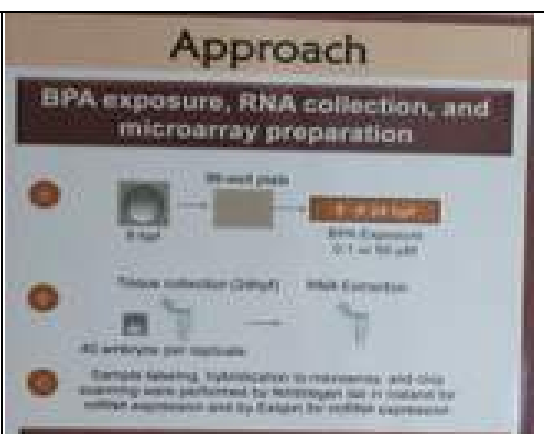


圖 10b 化學品毒性測試 2

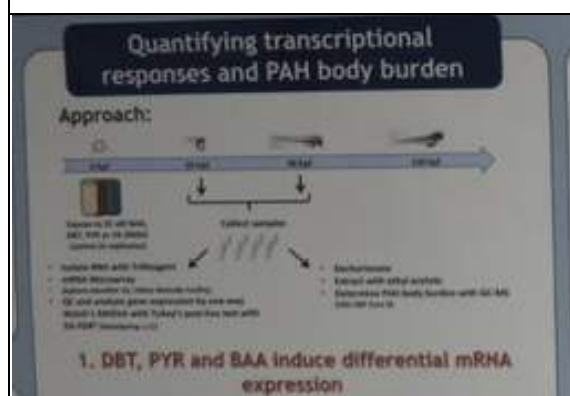


圖 10c PAH 化學品毒性測試 1

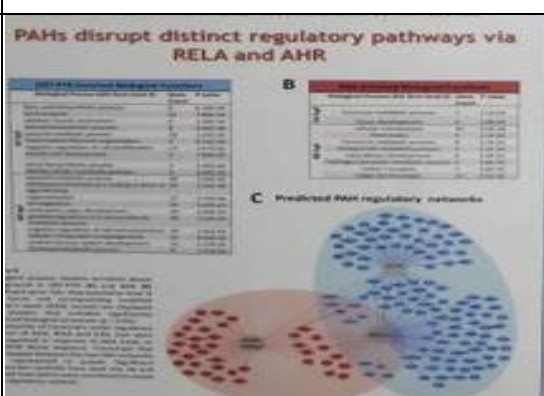


圖 10d PAH 化學品毒性測試 2

五、胚胎內注射化學品的異常影響

為什麼使用斑馬魚作為環境暴露模式。因為其毒理機制與其他脊椎動物相似，加上在

實驗室內容易繁殖，試驗生物取得容易，因此是非常有用的模式，可協助瞭解細胞如何在其他脊椎動物，包括人類在內的，應對的化學物質，探討出化學物質如何在生物生長過程造成之影響，化學品如何影響發育中的胚胎進行暴露實驗(圖 11a-d)，SARL 使用裝在培養皿的半透明的斑馬魚胚胎，使用玻璃針提吸取胚胎遺傳物質，以確定 DNA 中的鹼基直接含有化學品的環境中暴露， 探討胚胎內化學品的影響。因斑馬魚的全基因組已解序，由胚胎暴露實驗中可以瞭解基因異常與特定疾病相關的基因的關係。SARL 測試斑馬魚暴露在特定濃度下的戴奧辛中 (Dioxin)，會造成幼魚脊椎和頭骨變形，與戴奧辛的接觸後也會影響魚鰭的再生能力，同時也可能使得神經發展受阻，進而造成斑馬魚的認知和行為模式的改變。另外多環芳香族碳氫化合物 (PAHs) 的和農藥暴露實驗， 發現斑馬魚對部份多環芳烴暴露會影響心血管的發展，導致心臟衰竭，造成魚苗死亡和降低成魚存活率。

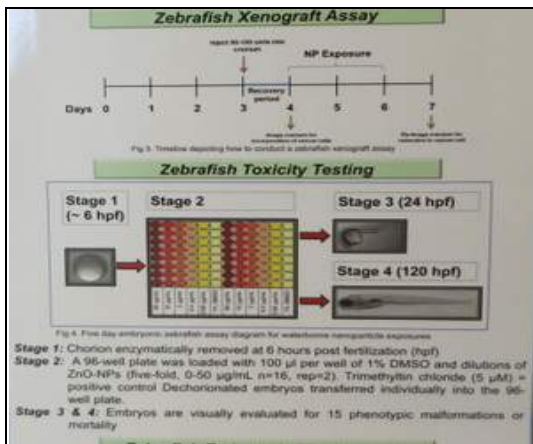


圖 11a 斑馬魚胚胎暴露

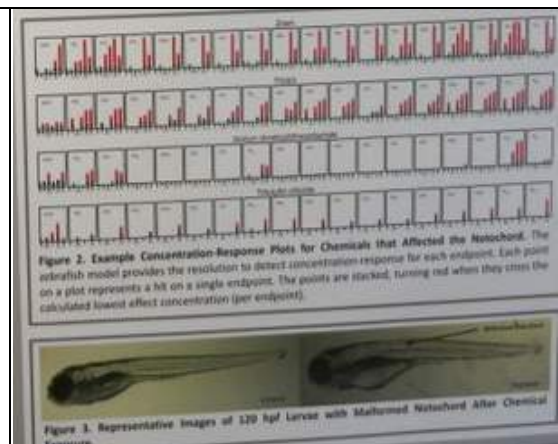


圖 11b 斑馬魚暴露



圖 11c 斑馬魚曝露脊椎

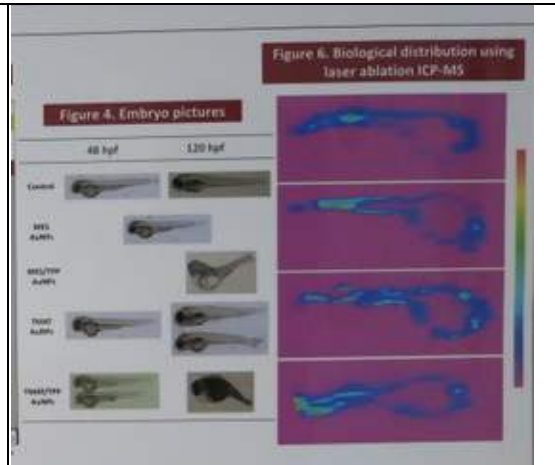


圖 11d 斑馬魚不同時齡曝露

六、自動化去胚胎絨毛膜

一般使有胚胎絨毛膜的胚胎放置到 96 孔盤或 384 孔盤中進行暴露實驗，胚胎曝露時仍然有胚胎絨毛膜，它會阻礙化學品滲透入胚胎內層(圖 12a-f) 而影響實驗進行，若要去除胚胎絨毛膜，需要人工去除胚胎絨毛膜，而 SARL 使用自動化去胚胎絨毛膜 (dechoriation) 儀器，實驗 1600 個去絨毛膜胚胎(4 小時及 6 小時受精後的胚胎, hours post fertilization, hpf) 移置在 96 孔盤中進行胚胎暴露。發現去絨毛膜胚胎存活率超過 95%，去絨毛膜胚胎在 24 hpf 後有 2%的胚胎死亡率，120 hpf 後有 2%的胚胎畸形率。所以使用去胚胎絨毛膜胚胎生物模型是很大潛力的，直接將去胚胎絨毛膜的胚胎進行化學品胎暴露實驗。自動化去胚胎絨毛膜具有省時方便性，減少人工操作，提高實驗效能。

		
<p>圖 12a 去胚胎絨毛膜 (dechoriation)1</p>	<p>圖 12b 手動去胚胎絨毛膜 (dechoriation)2</p>	<p>圖 12c 手動去胚胎絨毛膜 (dechoriation)3</p>
		
<p>圖 12d 手動去胚胎絨毛膜 (dechoriation)4</p>	<p>圖 12e 自動去胚胎絨毛膜機 1</p>	<p>圖 12f 自動去胚胎絨毛膜機 2</p>

七、使用高通量篩選技術

SARL 參與 21 世紀之毒性測試遠景及策略計畫 (Tox21)，是美國環境保護署、藥物食品理局及國家衛生研究院共同簽訂之 5 年合作備忘錄，其目的在於建立科學化、具成本效益且以毒性機轉為基礎之化學品風險評估模式。Tox21 主要四個目標分別如下：化學品選擇：測試化學品包括美國毒理學計畫(National Toxicology Program, NTP)、美國環境保護署及國家衛生研究院化學基因體中心 (NIH Chemical Genomics Center , NCGC)分別各選定約 2800 種。其選擇基於已知化學結構、純度及與高通量篩測常用之溶劑- dimethyl sulfoxide (DMSO)溶解度及穩定度。生物毒性機制及檢測技術：確認及決定優先使用可信

度較高之高通量篩測試的主要依據。檢測技術包括測定 (1) 人類及嚙齒動物細胞之細胞毒性及活化細胞凋亡，(2) 抑癌蛋白基因之正調控，(3) 細胞核受體活性促進或抑制，及 (4) 細胞株因對於不同程度 DNA 受損修補能力受到抑制所產生不同類型之細胞毒性。其他正列入考量之檢測技術包括測定不同種類重要分子機制如細胞壓迫反應，及結合人類及嚙齒類肝臟代謝活性之報導基因分析等。網路資訊：提供儲存高通量篩測試分析方法、說明、數據，公共可利用性及下一階段優先測試化合物等資料。其公開可利用之資料庫包括既有之相關資料庫如 NCBI's PubChem，EPA's ACToR (Aggregated Computational Toxicology Resource)，and NIEHS' CEBS (Chemical Effects in Biological Systems)。

特定測試法：發展作為後續高通量篩測試之策略及能力時所涉及之較高等生物測試系統如蛔蟲 (*Caenorhabditis elegans*)、斑馬魚胚胎及嚙齒動物等特定性測試法。Tox21 為能減少使用或不使用試驗動物，又可快速準確進行新興化學品之毒性評估，希望建立一套可預測生物體內毒性之體外生物活性測試系統。為達此目標，目前 Tox21 團隊已在國家衛生研究院化學基因體中心，已完成建置以高速機器手臂全自動篩選系統，同時執行數千種可能具毒性化學物之非動物試驗模式如生化及細胞毒性高通量篩測等之核心技術。SARL 發展特定測試法以斑馬魚作為高通量篩選模式之篩測試的策略及能力，使用以斑馬魚胚胎做為特定性測試法，進行快速檢測大量的化學品。使用高通量篩選機器手臂(圖 13a-f) 分裝胚胎，進行斑馬魚胚胎的化學品濃度暴露測試。SARL 設計出機器手臂將已去除絨毛膜的胚胎平均精密分裝到 96 孔盤中，每 1 個孔盤均有斑馬魚胚胎，由機器手臂將其與移入不同濃度劑量的化學品中進行暴露，觀察胚胎發育過程中所受到的影響。SARL 以此模式也進行表面活性劑的毒性評估，因為表面活性劑常用在清理環境污染物，為確保其使用表面活性劑是否會產生對其他生物有害的影響。使用高通量設備機器手臂移置去胚胎絨毛膜胚胎，實驗結果，在 96 多孔盤放置受精後 6 小時 (hpf) 之胚胎試驗中，胚胎死亡率為 2.8%，錯接

率為 1.2%，和夾多個胚胎的頻率為<0.1%。所以使用機器手臂高通量設備是一項高效率的發明，具省時、有效，及準確性。



八、行為評估(Behavior assessment)

全氟辛酸鈹 (Perfluorooctanoic Acid 縮寫為 PFOA)，為一種持久性有機污染物，較少評估其對水生生物的影響(圖 14a-i)。SARL 評估 PFOA 對斑馬魚胚胎的影響，結果顯示斑馬魚胚胎會出現脊椎彎曲的發育毒性，魚鰾器官無法充氣的，且會降低心臟跳動速率。而且不同的 PFOA 暴露濃度會產生不同的結果，如以 0-8 毫克/公升的 PFOA 進行暴露，胚胎 6 到 120 小時大 (受精後 6 小時 hpf) 的斑馬魚會影響其自發運動，而在 120 hpf 後的半致死率 LC (50) 為 2.20 毫克/升，在 120 hpf 半數效應濃度 EC (50) 為 1.12 毫克/升，

從 1 到 121 hpf 的胚胎再持續暴露於 PFOA，會誘發胚胎的細胞死亡，在 24 hpf 後胚胎的大腦，眼睛和尾部區域都會發現有 PFOA 的存在。以 PFOA 進行行為評估 (Behavioral assessments)，發現幼魚暴露於 PFOA (0.25-4 毫克/升時) 1 小時，會使得其游泳速率變快，胚胎幼魚 (1 到 121 hpf) 經過 8 毫克/升 PFOA 24 小時暴露，導致以 97-121 hpf 發育期幼魚畸形發生率最高。以上是 SARL 進行斑馬魚暴露 PFOA 後之行為模式評估研究。但為確定 PFOA 毒性的模式仍需執行更多的測試，以瞭解 PFOA 影響斑馬魚行為模式。







 <p>Embryonic</p>	 <p>Larval</p>	 <p>Adult</p> <p>Shuttle Boxes Learning and Memory</p>
<p>圖 14a 斑馬魚胚胎</p>	<p>圖 14b 斑馬魚行為評估 1</p>	<p>圖 14c 斑馬魚行為評估 2</p>
	 <p>small tunnel assembled vol. = 2200 ml large tunnel assembled vol. = 2500 ml</p>	
<p>圖 14d 斑馬魚行為評估 3</p>	<p>圖 14e 斑馬魚行為評估 4</p>	<p>圖 14f 斑馬魚行為評估 5</p>

圖 14g 斑馬魚胚胎反應 1	圖 14h 斑馬魚胚胎反應 2	圖 14i 斑馬魚胚胎反應 3

九、國際斑馬魚資源中心毒性測試

ZFIN 使用斑馬魚(Danios) 作為探討環境污染對於環境生物的影響模式(圖 15a-n) , 以瞭解環境污染對於生物、人類健康、和疾病之相關性。不同的生物因基因之間具相似性，或遺傳同源性，ZFIN 用斑馬魚來當模式生物足以推論出人類受污染物危害，再加上斑馬魚有類似人類構造（以及類似的組織和器官），且他們容易飼養，斑馬魚胚胎具有可透視度，具透明度的特性已成為使用它們的科研領先的原因之一，不用執行侵入性的檢測或解剖，就能夠觀察到活胚胎發展過程中發生的形態變化、細胞移動、器官形成及發展、及心臟跳動等。ZFIN 利用轉殖基因技術，發展出綠色螢光蛋白基因，植入標記於單個細胞、器官中，可以清楚觀察胚胎如何在發育過程中產生異常情況。斑馬魚胚胎發育快速，從一個受精卵(單個細胞)到一隻幼魚，可在 24 小時內完成，但若使用老鼠實驗，則這個過程需要 21 天左右。而且斑馬魚胚胎更可操遺傳作用，使突變產生及判讀，當一個基因的正常功能被改變會發生什麼變化，可以觀到在斑馬魚胚胎突變的效果。斑馬魚的研究，可以進一步瞭解和表徵突變體需要更多的遺傳資源。ZFIN 也有自行建造的魚循環系統，該系統與

SARL 相似，但飼養魚數量種更多。FZIN 使用綠色螢光蛋白，綠色螢光蛋白，使用基因來自其它生物體基因動物被稱為轉殖基因。將水母基因注射到受精的魚卵。這些成魚便攜帶水母基因。加入該啓動子序列的基因的因子，這種轉基因具有所有直接因子在特定細胞類型中生產所需的信息，在胚胎中有具有可以亮起來不同的細胞和器官部位。這意味著可以按照這些細胞的胚胎發育，通過在突變胚胎螢光追蹤細胞，可以研究缺陷的基因如何影響細胞的正常功能，幫助瞭解斑馬魚各項影響因子。



圖 15a 河水抽水系統 1



圖 15b 河水抽水系統 2

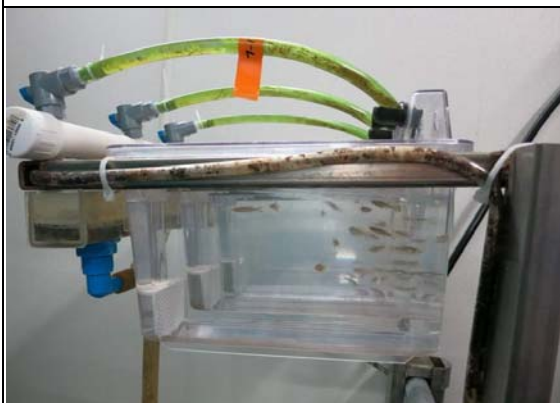


圖 15c 河水抽水魚毒測試 1



圖 15d 水質監測 1



圖 15e 飼養架



圖 15f 飼養架水量控制器



圖 15g 飼養架水量曝氣系統



圖 15h 飼料

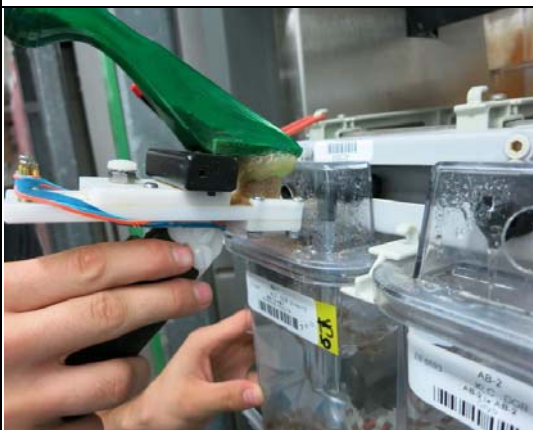


圖 15i 飼料定量投入器



圖 15j 斑馬魚胚胎收集



圖 15k 斑馬魚胚胎收集網



圖 15l 飼料-豐年蝦飼養



圖 15m 解剖顯微鏡下觀察胚胎



圖 15n ZFIN 研究人員

參、進修心得

本次研習之機構為隸屬美國奧瑞崗州立大學及美國奧瑞崗大學。ZFIN 為國際性知名供應及研究中心，SARL 為國際性知名的斑馬魚研究中心，二者因研究需求設立化學品毒性、環境污染物生物毒性模式，具有對斑馬魚生物毒性有領先技術及科學知識，SARL 組織架構包括生物飼養、生物空間與繁殖、微量注射、化學毒性暴露、基因轉殖、諮詢及技術轉移等部門。其研究範圍廣泛包括完整的化學品毒性分析、環境污染物分析、生態系統影響、毒性綜合評估等，對於環境研究架構完整，這對於國內環境調查常常只侷限於污染物調查單項而言，有其必要參考環境健康研究中心水質研究實驗室之完整調查系統進行改善。因我們所每個人每天遇到上萬種人工合成的化學物質，SARL 應用這些環境生物對於化學品的測試，但卻有更多的化學品未經生物毒性測試就廣泛在我們生活中使用，SARL 正在努力改善這種情形。SARL 測試化學物質對斑馬魚及其胚胎的影響。斑馬魚對毒性測試評估相當有助益，因為它們可以在一個小時內繁殖，並隨著他們的成長，很容易觀察斑馬魚透明胚胎的生長變化。因為斑馬魚也是和人類一樣是脊椎動物，而且在早期的發展中，斑馬魚從一個單細胞發展成一個複雜的有機體，這個過程也和人類相同。因此如果一種化合物可能會危害到人類的發展，我們顯然不能在人類身上執行那些研究，但可以使用斑馬魚作為生物毒性研究模型測試，很早以前 SARL 就利用斑馬魚研究於戴奧辛、環芳香族碳氫化合物的研究，一直在努力了解這些污染物對人體健康的影響。新近 SARL 更探討多項化學品對斑馬魚鰭和其它組織器官的影響。SARL 的試驗水循環系統、斑馬魚胚胎高通量技術使得胚胎容易取

得、胚胎內注射化學品的異常影響、自動化去胚胎絨毛膜、機器手臂分裝系統、化學品的毒性測試系統、行為模式評估和其他方面的創新技術，使得研究人員可以在同一時間操作多個測試，而且每個測試可縮短更多時間，所以在不同的時間，SARL 都在測試幾百種化學物質。

環境健康研究中心水質研究實驗室位於奧瑞崗大學實習農場旁，因此週遭環境視野極廣，並且環境營造非常人性化。實驗工作分工專業，例如為維持斑馬魚生物毒物試驗之順利進行，其分工包括 1 位飼養生物人員、1 位負責設備保養及設計、3 位不同領域研究員，目前承接 EPA Tox21 新研究計畫後，每人更就自己負責之工作合力完成，因此研究非常順利，SARL 的負責人每週安排執行計畫的研究人員報告工作內容、進度及各部門需協助事宜，變動中之任何一次試驗，均會撰寫試驗計畫書並將實驗之每天預定執行進度規劃好，每日需紀錄之紀錄表也明列清楚，讓參與計畫之任何一位人員清楚每日進度及需填列之資料，每項紀錄表格紀錄清楚並收集建檔，如此做法值得參考。

肆、建議

本研習參訪之 SARL、ZFIN 為國際上執行化學品及環境污染物對生物毒性之斑馬魚影響調查相當有經驗且完善之單位，經由實際參訪、參與及討論，經歸納以下幾點建議供國內未來執行化學物質之高通量生物毒性檢測相關計畫之參考：

1. 過去進行環境基質監測時，常使用幼魚執行毒性評估，需較長時間飼養及空間，現可引進美國斑馬魚胚胎進行化學品評估方法，應對執行高通量快速檢測評估有所助益，並可藉由 SARL 自行開發高通量機器手臂系統，進行化學品曝露檢測，應對人力及數據準確及影響有所助益。
2. 過去國內執行生物毒性試驗系統，常需要大量運用人力觀察細胞、仔魚或成魚的影響，可藉由 SARL 開發高通量顯影系統，自動錄影及紀錄胚胎暴露測試的發育變化，對於執行高通量生物毒性測試樣品可提高效能。
3. 生物毒性測試所需試驗生物之動物馴養是測試是否穩定之重要關鍵之一，因此，引進 SARL 或 ZFIN 飼養系統，應有助於生物毒性之準確性。過去每批次生物之狀況常會造成誤差，由於 SARL 有一套馴養系統，可以控制每批次試驗生物之活性，應可供國內相關試驗之參考。
4. SARL 研究人員分工制度相當良好，加上學術及經驗豐富，因此執行計畫或分析時，相當熟練且具公信力，此足供國內參考。SARL 研究重點與目前國內重視之問題如環境中的多溴二苯醚、全氟辛酸、表面活性劑及戴奧辛污染及危害等皆已研究多年，其成果應可供國

內參考。

5. 斑馬魚胚胎毒性測試應用在化學品高通量監測，檢驗技術已純熟且適用於各項環境基質，如土壤及水體。再加上 SARL 為制定斑馬魚胚胎試驗方法時需要充足數據及驗證，值得國內學習參考。

伍、附錄(參考文獻)

1. Robert Tanguay et. al., Multidimensional in vivo hazard assessment using zebrafish, *Toxicol Sci.* 2014 Jan;137(1):212-33.
2. Robert Tanguay et. al., Comparative development toxicity of environmentally relevant oxygenated PAHs, *Toxicol Appl Pharmacol.* 2013 Sep 1;271(2):266-75.
3. Robert Tanguay et. al., Global gene expression analysis reveal pathway differences between teratogenic and non-teratogenic exposure concentrations of bisphenol A and 17 β -estradiol in embryonic zebrafish, *Reprod Toxicol.* 2013 Jul;38:89-101.
4. Robert Tanguay et. al., Chronic PFOAS exposures induce life stage-specific behavior deficits in adult zebrafish and produce malformation and behavioral deficits in F1 offspring., *Environ Toxicol Chem.* 2013 Jan;32(1):201-6
5. Robert Tanguay et. al., Bridging environmental mixtures and toxic effects., *Environ Toxicol Chem.* 2012 Dec;31(12):2877-87
6. Robert Tanguay et. al., Investigating the impact of chronic atrazine exposure on sexual development in zebrafish., *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2012 Aug;95(4):276-88.

7. Robert Tanguay et. al., Automated zebrafish chorion removal and single embryo placement: optimizing throughput of zebrafish developmental toxicity screens., J Lab Autom. 2012 Feb;17(1):66-74.

8. Robert Tanguay et. al., Introduction to zebrafish: current discoveries and emerging technologies for neurobehavioral toxicology and teratology., Neurotoxicol Teratol. 2011 Nov-Dec;33(6):607