

中華民國第 51 屆中小學科學展覽會  
作品說明書

---

高中組 生物(生命科學)科

第二名

040703

海鱸血清對海鱸鰭細胞成長的影響

學校名稱：國立馬公高級中學

作者： 高一 古大欣	指導老師： 洪立菊
---------------	--------------

關鍵詞：魚類細胞株、魚血清、細胞成長

## 摘要

本文以動物細胞培養方法探討 Leibovitz medium L-15 培養基中以海鱺血清取代胎牛血清來培養海鱺鰭細胞株(CF-2)的可行性。結果發現 L-15 培養基中以 0%、50%、75%、87.5%及 100% 海鱺血清取代胎牛血清濃度來培養海鱺鰭細胞，24 小時後其附著率分別為 51.9%、51.9%、54.6%、26.2%及 24.0%；附著細胞中含破損細胞比率亦隨著海鱺血清濃度提高而增加。以同樣條件(缺取代 87.5%組)培養海鱺單層細胞，6 天後計算細胞數目，發現其細胞數分別為最初細胞數的 4.16、10.84、11.84 及 9.2 倍。這些結果說明海鱺血清中雖具有影響 CF-2 附著的因子，但也含有促進 CF-2 增殖的因子。CF-2 細胞過馴化後可例行培養在 L15-1.25/8.75 培養基，顯示海鱺血清具有大量取代胎牛血清來培養魚類細胞株的潛力。

## 壹、研究動機

台灣自 1981 年陳秀男及郭光雄兩位教授發表第一株魚類細胞株 EO-2 後，迄今已從 13 科 19 種魚類建立出 49 株以上的魚類細胞株；其中 11 株來自 7 種淡水魚，10 株來自 4 種鹹淡水魚，28 株來自 9 種海水魚。早年多以淡水魚細胞培養的材料來源，自 90 年代起，隨著海水養殖的興起及技術的進步，細胞株均源自於養殖的海水魚，其中石斑高達 18 株。其來源組織則依序為鰭 (10 株)、腦 (10 株)、腎臟 (7 株)、心臟 (4 株)、泳鰾 (4 株)、鰓 (3 株)、生殖腺 (3 株)、脾臟 (2 株)、眼球 (2 株)、肝臟 (2 株)、肌肉及魚苗碎組織 (各 1 株)。這些魚類細胞株均使用 Leibovitz L-15 培養基，並添加 10% 胎牛血清，培養溫度介於 24°C 至 31°C 間。細胞株的主要用途為進行病毒學研究，也朝向於研究生理學、毒物學及污染學等領域 (鄭, 民 99)。

胎牛血清是取自未出生的胎牛心臟，在許多人的眼中取得的手法極為慘忍，怵目驚心，現已成為一個道德倫理的議題。取得胎牛血清要先殺死牛媽媽，才能取出胎牛寶寶，而每隻胎牛的心臟只能抽取出 0.2 至 0.5 公升的血清(Tavenier et al., 2010)。使用胎牛血清也帶來一些問題，如價格昂貴且每隻胎牛的血液成分和特性也不一定相同，也可能出現人畜共通的病毒、胞漿菌，甚至出現造成狂牛症的普里昂蛋白質(prion)等，除可能危及研究人員也使得經由細胞培養而來的生物製劑有潛在的危險性。此外，海鱺為澎湖箱網養殖最大且最多的魚種，平均每天約宰殺 550 尾，一年以 300 天計算則其流入海域的血液約有 6.6 噸，會影響澎湖內灣海域的生態環境(古及陸, 民 97)。因為上述多種原因，許多細胞培養的專家企圖以魚血清來取代胎牛血清 (Sawyer and Sawyer, 1995)。



澎湖海水箱網



箱網養殖海鱺



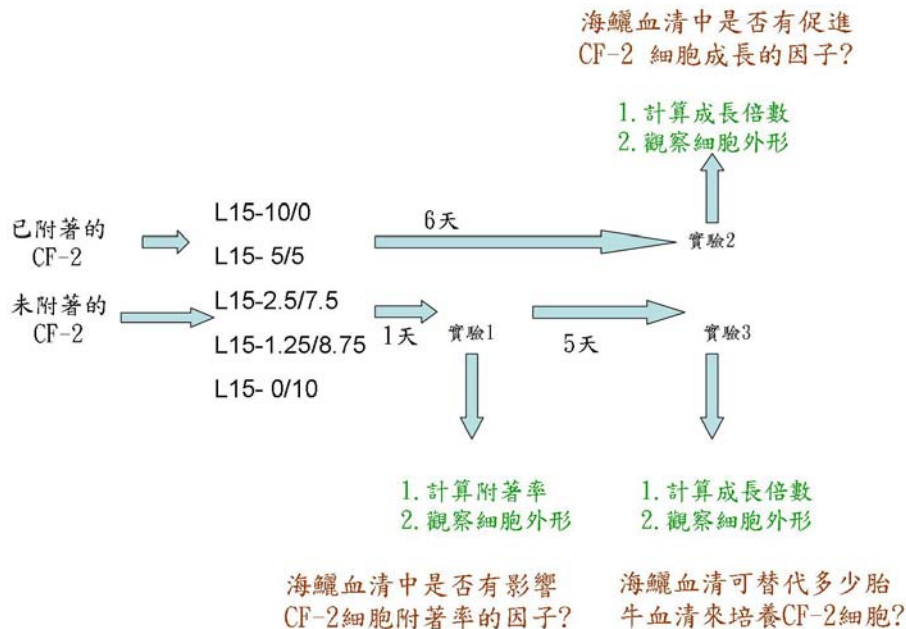
平均每天宰殺300尾6-8 kg的海鱺

## 貳、研究目的

本研究擬以不同比例的海鱷魚血清搭配胎牛血清來培養 CF-2 細胞株，並觀察其對細胞外部型態及成長的影響。其目的在探討海鱷魚血清部份取代或完全取代胎牛血清來培養 CF-2 細胞的可行性，期望能減少胎牛血清的使用量及降低海鱷養殖產業對海洋污染，達到永續經營的概念。此外，亦可藉由此研究進一步了解高中基礎生物學中涉及的細胞構造、細胞生理及細胞分裂。

## 參、研究設備及器材

### 實驗架構



### 一、材料:

#### (一)、細胞株:

實驗所採用的 CF-2 細胞株為國立澎湖科技大學水產養殖系碩士班研究生鄭兆廷同學所建立(民 99)，其為一株源自於海鱷魚鰭組織的纖維樣細胞株；培養基為 Leibowitz medium L-15 並添加 10% 的胎牛血清，例行培養在 28°C 恆溫培養箱中。

#### (二)、培養基的製備:

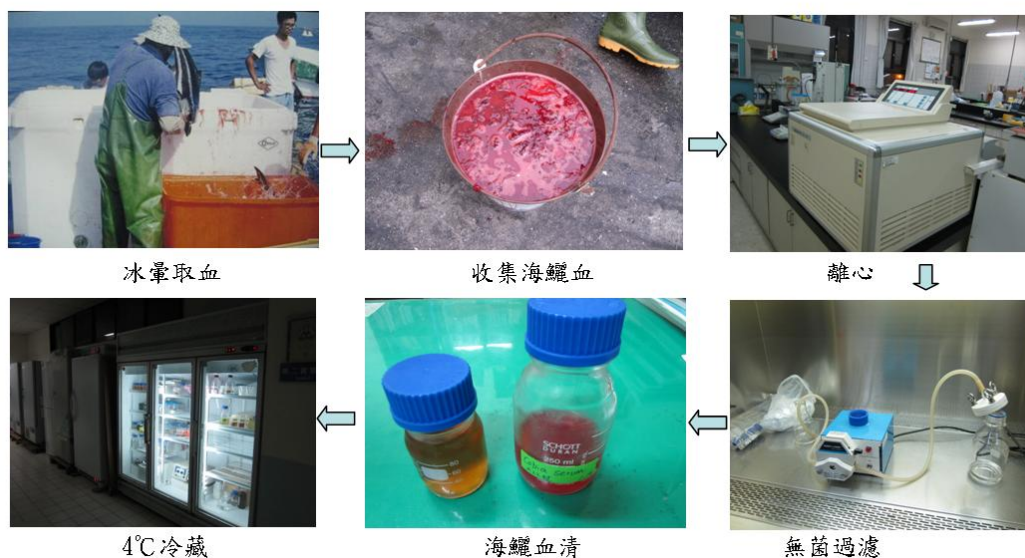
實驗中所採用之培養基是由 Flow Laboratories, Scotland 所生產之 Leibovitz medium L-15。將所購得之粉狀培養基溶於二次蒸餾水後，再以滅過菌的 0.22  $\mu\text{m}$  濾紙的過濾器過濾。加入所需濃度的胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS, GIBCO) 或海鱷血清 (cobia serum, CS) 及 100 IU/ml

之 penicillin 及 100 ug/ml 之 streptomycin (GIBCO)後，貯藏於 4°C 下備用。

含 5% FBS 及 5% CS 的 L-15 以 L15-5/5 表示，而含 2.5%FBS 及 7.5%CS 者則以 L15-2.5/7.5 表示，其餘依此類推。

### (三)、海鱧魚血清的製備:

海鱧血取自天合海洋開發股份有限公司位於澎湖縣二崁海域的箱網養殖場，血液取回後，於 4°C 靜置過夜。以 1600 rpm 離心 10 分鐘後，取其上清液。先以含 0.45  $\mu$ m 濾紙的過濾器過濾，再以內含滅菌的 0.22  $\mu$ m 濾紙的過濾器在無菌操作台內過濾。過濾後的海鱧血清保存在 200 ml 的無菌瓶中。貯藏於 4°C 下備用。



### (四)、磷酸緩衝溶液 (Phosphate-Buffered Saline: PBS)

NaCl	8 g
KCl	0.2 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.2 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.15 g
二次蒸餾水	1000 mL

高溫滅菌後，保存於室溫。

### (五)、0.1% 胰蛋白酶溶液

NaCl	8 g
KCl	0.2 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.2 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.15 g
EDTA	0.2 g
Trypsin	1 g
二次蒸餾水	1000 mL

以 0.22  $\mu$ m 滅菌過濾膜過濾後，保存於 4 °C。



## 二、設備與器材:



無菌操作台



倒立顯微鏡



粒度計數器



二次蒸餾水製造機



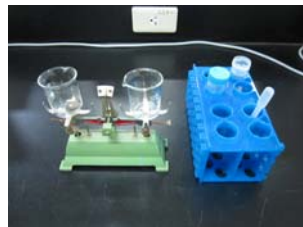
高溫高壓滅菌釜



乾燥箱



離心管(50 ml)



等臂天平



離心機



吸管輔助器



電秤



滅過菌的實驗用品



刻度吸量管



過濾膜 (0.22um)



L-15 培養基



液態氮冷凍桶



恆溫培養箱



T-25 角瓶



電磁攪拌器



胎牛血清及海鱧血清



實驗室一景

## 肆、研究過程或方法

### 一、 繼代培養:

倒立顯微鏡下觀察，發現 CF-2 細胞長滿單層時即可進行繼代培養。繼代培養的操作過程均在無菌操作台中進行。首先將培養角瓶中的舊培養基倒掉，加入 PBS 清洗後倒棄，再加入約 3 ml 的 0.1% 胰蛋白酶溶液，放置在倒立顯微鏡下觀察，待細胞收縮後立刻倒棄胰蛋白酶溶液，並以手輕拍培養角瓶使細胞脫離生長面並分散成顆粒。加入 15 ml 新鮮培養基，混合均勻後再平均分配到新的培養瓶中。通常一個培養瓶經繼代培養後，可分配成三個培養瓶。

### 二、 細胞在海鱷血清培養條件下的連續顯微照相:

將培養細胞的 T-25 角瓶置於倒立顯微鏡觀察台上，使用拍照軟體(ACT- 2U)進行觀察，調焦後以每 3 分鐘拍攝 1 次方式拍攝 150 次。再以 Windows Movie Maker 軟體，製成影片。觀察細胞分裂及移動的情形。

### 三、 細胞計數:

T-25 角瓶中的細胞以 PBS 清洗後添加 0.1% 胰蛋白酶，待細胞收縮後將胰蛋白酶倒棄並將細胞拍散。使用刻度吸量管加入 10 mL PBS。取 1mL 細胞懸浮液，以 PBS 稀釋 10 倍後加入專用計數杯中。使用粒度計數器(Coulter counter, Beckman Z1)計算細胞數。每個樣品計數三次，取其平均值。角瓶中的細胞總數=平均值 x 20 x 10 (加入角瓶中的 PBS 體積)。

### 四、 海鱷血清對 CF-2 細胞附著率弱化的影響:

將一定量細胞分別接種至內含 L15-10/0、L15-5/5、L15-2.5/7.5、L15-1.25/8.75 及 L15-0/10 培養基之 T-25 角瓶中，置於 28 °C 培養箱培養。24 小時後自培養箱取出，分別觀察其外觀並拍照及計算細胞數目。實驗為三重複。

### 五、 海鱷血清對 CF-2 單層細胞成長促進的影響:

將一定數量細胞接種於含 L15-10/0 培養基的 T -25 角瓶中，每個角瓶的細胞數目相同，置於 28 °C 培養箱。隔夜後取出三個角瓶計算其細胞數目。其餘角瓶則倒棄培養基，並分別加入 L15-10/0、L15-5/5、L15-2.5/7.5 及 L15-0/10 之培養基，置於 28°C 培養箱中培養。每日觀察其外觀之變化並拍照。6 天後自培養箱取出，分別計算其細胞數目。實驗為三重複。

### 六、 海鱷血清應用在實際培養 CF-2 細胞的影響:

將一定數量細胞分別接種於內含 L15-10/0、L15-5/5、L15-2.5/7.5 及 L15-0/10 培養基的 T-25 角瓶中，置於 28°C 培養箱中培養。每日觀察其外觀之變化並拍照。6 天後自培養箱取出，分別計算其細胞數目。實驗為三重複。

### 七、 CF-2 對海鱷血清的馴化:

CF-2 培養在 L15-2.5/7.5 培養基 2 個繼代後，將之培養在含舊(使用過)培養基及 L15-1.25/8.75(新鮮)各半的條件培養基中。當細胞長滿單層後，就將之培養在舊培養基及

L15-1.25/8.75 各半之條件培養基中。之後就一直培養在新舊各半的條件培養基中。當細胞完全適應後就不再使用條件培養，而直接以新鮮 L15-1.25/8.75 來培養細胞。紀錄及拍照細胞馴化的過程。

#### 八、 超低溫冷凍保存:

將培養在 T-75 角瓶中的細胞以 PBS 清洗後添加 0.1% 胰蛋白酶，待細胞收縮後將胰蛋白酶倒棄並將細胞拍散，以刻度吸管將細胞收集至 50 mL 離心管，以 1000 rpm 離心 10 分鐘後。小心倒棄上清液後，輕輕敲散離心管底部之細胞。加入 10 mL 冷凍培養基(10% DMSO，40% CS，50% L15)與細胞進行混合並分裝於冷凍小管中。將冷凍小管置於保麗龍箱內，使用膠帶密封並置於 -80°C 中逐步降溫。隔夜後取出並固定在鋁條，冷凍保存在液態氮桶中。

1 個月後取出冷凍小管，在室溫下以自來水沖洗冷凍小管瓶身進行解凍，需注意避免沖洗冷凍小管瓶蓋。解凍後將細胞接種在內含 L15-1/9 培養基之 T-25 角瓶內，置於 28°C 培養箱中培養。隔日觀察期附著及成長情形。



## 伍、研究結果

CF-2 細胞外型為纖維狀(Fig. 1A)，長滿後細胞間的輪廓不明顯(Fig. 1B)。當細胞在「饑餓」時(超過 5-7 天未繼代)，細胞內出現空泡，核周圍出現黑點 (Fig. 1C)。

#### 一、 海鱷血清對 CF-2 細胞附著率弱化的影響:

將  $5.2 \times 10^5$  個 CF-2 細胞分別接種於內含 L15-10/0、L15-5/5、L15-2.5/7.5、L15-1.25/8.75 及 L15-0/10 培養基的 T-25 角瓶中，並置於 28 °C 培養箱 24 小時後其附著率分別為 51.9 %、51.9 %、54.6 %、26.2 % 及 24.0 % (Table 1)。附著細胞的伸展強度隨著培養基中胎牛血清濃度降低而減弱，出現在細胞核周圍的黑點隨著海鱷血清濃度的增加而變多(Fig. 2)。

#### 二、 海鱷血清對 CF-2 單層細胞成長促進的影響:

CF-2 於 L15-10/0 隔夜培養並形成單層後，分別更換成含 L15-10/0、L15-5/5、L15-2.5/7.5 及 L15-0/10 等的培養基中培養 6 天，計算其細胞數目，發現其細胞數分別為最初細胞數的 4.16、10.84、11.84 及 9.2 倍 (Table 2)。由於細胞密度太高，均重疊生長；L15-10/0 組上下層細胞外型均健康，L15-5/5 及 L15-2.5/7.5 組上層細胞出現空泡，下層則無，而 L15-0/10 這組則上下層均出現空泡(Fig. 3)。

### 三、海鱷血清對實際培養 CF-2 細胞的影響:

分別將  $1.5 \times 10^6$  個細胞直接接種於內含 L15-10/0、L15-5/5、L15-2.5/7.5、L15-0/10 培養基的 T-25 角瓶中，並置於 28°C 培養箱中培養 6 天，計算其細胞數目，發現其細胞數分別為最初細胞數的 4.41、4.77、3.07 及 0.37 倍 (Table 3)；其外部型態除 L15-0/10 這組的部分細胞會先成團懸浮在培養基再附著，少數單獨附著的細胞則出現空泡且細胞核周圍有黑點外，其餘各組的外觀和 L15-10/0 相似 (Fig. 4)。

### 四、CF-2 對海鱷血清的馴化:

CF-2 培養在 L15-2.5/7.5 培養基 1 個繼代後，將之繼代培養在含使用過(舊)培養基及 L15-1.25/8.75(新鮮)各半的條件培養基中，發現細胞可附著在使用過(舊)及新的角瓶中(請觀看影片紀錄)，但長成單層後容易整片脫落。接種在使用過角瓶中的細胞初期呈均勻附著狀，密度增加後仍以平面狀呈現；而接種在新角瓶中的細胞初期就呈現山脈狀分布，密度增加後亦然(Fig. 5)。經過 2 次條件培養後細胞可直接培養在 L15-1.25/8.78 的新鮮培養基中。

若將之繼代並培養在舊培養基及新鮮 L15-0/10 各半之條件培養基中，發現接種在舊角瓶中的細胞初期會均勻附著，但細胞密度增加後會以山脈狀呈現且容易整片脫落；而在新角瓶中的細胞則聚集成多個小球團且多數漂浮在培養基中，只有少數附著。

### 五、超低溫冷凍保存:

取出液態氮內存放細胞的冷凍小管，於室溫下以自來水沖洗冷凍小管。待管內細胞解凍後以無菌操作將細胞接種至內含 L15-1/9 培養基之 T-25 角瓶內，置於 28°C 培養箱中培養。隔日觀察發現 T-25 底面積約只有 1/3 附著細胞，細胞外型不正常，更換新鮮培養基後細胞仍無法長成單層。

## 陸、討論

雖然海鱷血清與本實驗類似的結果也出現在 Hashimoto et al. (1997) 的研究報告。發現添加魚血清及胎牛血清的 DMEM 培養液對金魚初代鰭細胞有生長促進作用且會影響其外部型態，但卻對金魚鰭細胞株沒有任何影響。故推測(1) 初代細胞保有接受鯉魚血清中含有的「成長促進因子」的特性，(2) 細胞株由於長期培養在胎牛血清中故失去了此特性。然而此推論並不適用於 CF-2 細胞株，因為本海鱷鰭細胞株已經培養在胎牛血清的環境下超過 100 代。此外 CF-2 細胞的外部型態並未因培養在添加海鱷血清中的培養基而有任何改變。但本文作者認為海鱷血清內含有較高成份的油脂含量可能是其具有成長促進作用的因素(資料未顯示)。

雖然目前正在學習算數平均數及標準差，但本研究每個實驗只有三重覆，故數據以平均數表達即可。而各條件組織間是否有顯著差異則必須使用變異數分析及事後比較，雖然可用電腦軟體直接帶入，但由於不明其來龍去脈，故本研究暫不比較各組間是否有顯著差異。

CF-2 細胞以含 40%胎牛血清，10%DMSO 及 50%L15 培養基的冷凍培養基逐步冷凍細胞，再以急速解凍方式解凍細胞，其細胞外型正常且存活率可達 75%以上(鄭, 民 99)，可是當把冷凍培養基的胎牛血清以海鱷血清替代後，解凍後其細胞外型不良，存活率卻低於 30%。推測此現象可能和海鱷血清中具有影響 CF-2 附著的因子有關。然而，確實原因仍有待進一步探討。



Sawyer and Sawyer (1995)在其專利聲明書中指出使用魚血清培養昆蟲及哺乳類細胞株具有下列優點 1.不含有會感染哺乳類細胞的病原菌，進而避免操作人員及使用細胞株產出的藥物的接受者受到感染，2.魚血清具有一致性及可重複性的高品質，3.相對於胎牛血清，其對人類有較低的免疫交叉反應，4. 提供哺乳類細胞及昆蟲細胞成長的營養因子。

故知海鱷血清若能應用在培養其他魚類細胞株、昆蟲細胞株甚至哺乳類細胞株則其經濟價值將明顯增加，除將提高水產廢棄物的再利用率也可降低水產養殖對海域的污染程度。故本研究將持續探討 1.海鱷血清是否可應用於其他種類的魚類細胞株如嘉臘魚鰭細胞株及石斑魚腦細胞株? 2.馴化一株可完全培養在 CS 的 CF-2 細胞株，並以含 CS 的冷凍培養基將之冷凍在液態氮中。3.海鱷血清濃度對已馴化 CF-2 細胞成長的影響。4.外來基因在馴化細胞內的表現能力及其接受魚類病毒的能力是否仍然存在?

## 柒、結論

本研究發現細胞的附著率及其伸展強度隨著培養基中海鱷血清濃度增加而減弱，若直接將 CF-2 細胞接種至只含海鱷血清的 L15 培養基(L15-0/10)中，多數細胞聚集成許多小球團漂浮在培養基中，只有少數細胞附著，故推測海鱷血清中缺少胎牛血清所含有的「細胞附著因子」。本研究亦發現 L15 培養基中添加部分或完全使用海鱷血清取代胎牛血清來培養已經附著的 CF-2 細胞，6 天後細胞生長數會比完全生長在胎牛血清(L15-10/0)那組高出 2 倍以上(Table 2)，故推測海鱷血清中含有可促進 CF-2 細胞成長的因子。這些結果顯示海鱷血清中具有影響 CF-2 細胞附著的因子，同時也具有促進 CF-2 細胞增殖的因子。此外也發現 CF-2 細胞過馴化後可例行培養在 L15-1.25/8.75 培養基，顯示海鱷血清具有大量取代胎牛血清來培養魚類細胞株的潛力。至於出現在 CF-2 細胞內的空泡或核周圍出現的黑點可能和海鱷血清中含有造成 CF-2 緊迫因子有關，故當海鱷血清濃度增加時其數量會變多(Fig. 2)，也可能和培養細胞的營養不足有關，如細胞多天未繼代即出現空泡(Fig. 1)。

## 捌、參考資料

- 古鎮鈞、陸知慧 (民 97)。箱網養殖對海域衝擊之管理。載於澎湖的海水箱網養殖(台大漁推，19，143-159 頁)。台北市，國立台灣大學漁業推廣委員會。。
- 鄭兆廷 (民 99)。建立與探討一株對淋巴囊腫病毒具敏感性之海鱷鰭細胞株。國立澎湖科技大學海洋創意產業研究所碩士論文，澎湖縣。
- Hashimoto, H., Toyohara, H., Yokoyama, Y., Sakaguchi, M., Ozato, K. and Wakamatsu, Y. (1997). Effects of carp serum on the growth of goldfish fin cells in early passage. *J Fish Biol* 50,201-207.
- Sawyer E.S. and Sawyer, P.J. 1995. Method for culturing mammalian cells and insect cells in a medium containing fish serum. WO 1995023212 19950831.
- Tavenier, J., Martinenaite, E., Lorenzen, E.E. and Waltemath, U.I. (2010). Adaptation of a fish cell line to a fetal calf serum free medium. Roskilde University International Basic Studies in Natural Sciences. 2<sup>nd</sup> Semester Project.

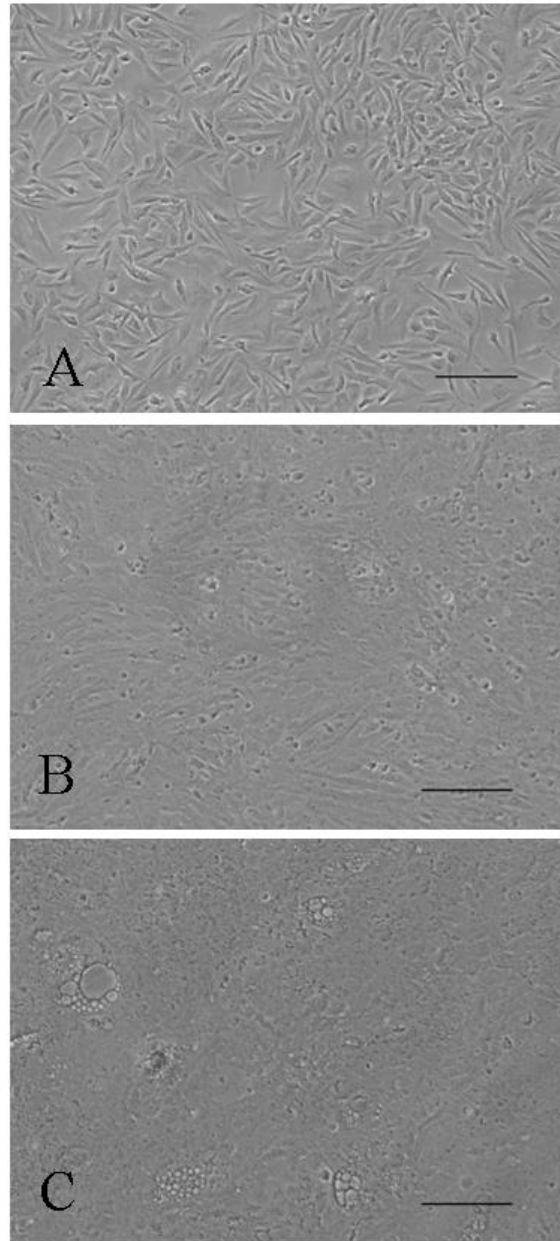


Fig. 1. 培養於 L15-10/0 之 CF-2，外型為纖維狀(A)，長滿後細胞間的輪廓不明顯(B)。當細胞超過 5-7 天未繼代，細胞內出現空泡，核周圍出現黑點(C)。尺規= 100  $\mu\text{m}$ 。

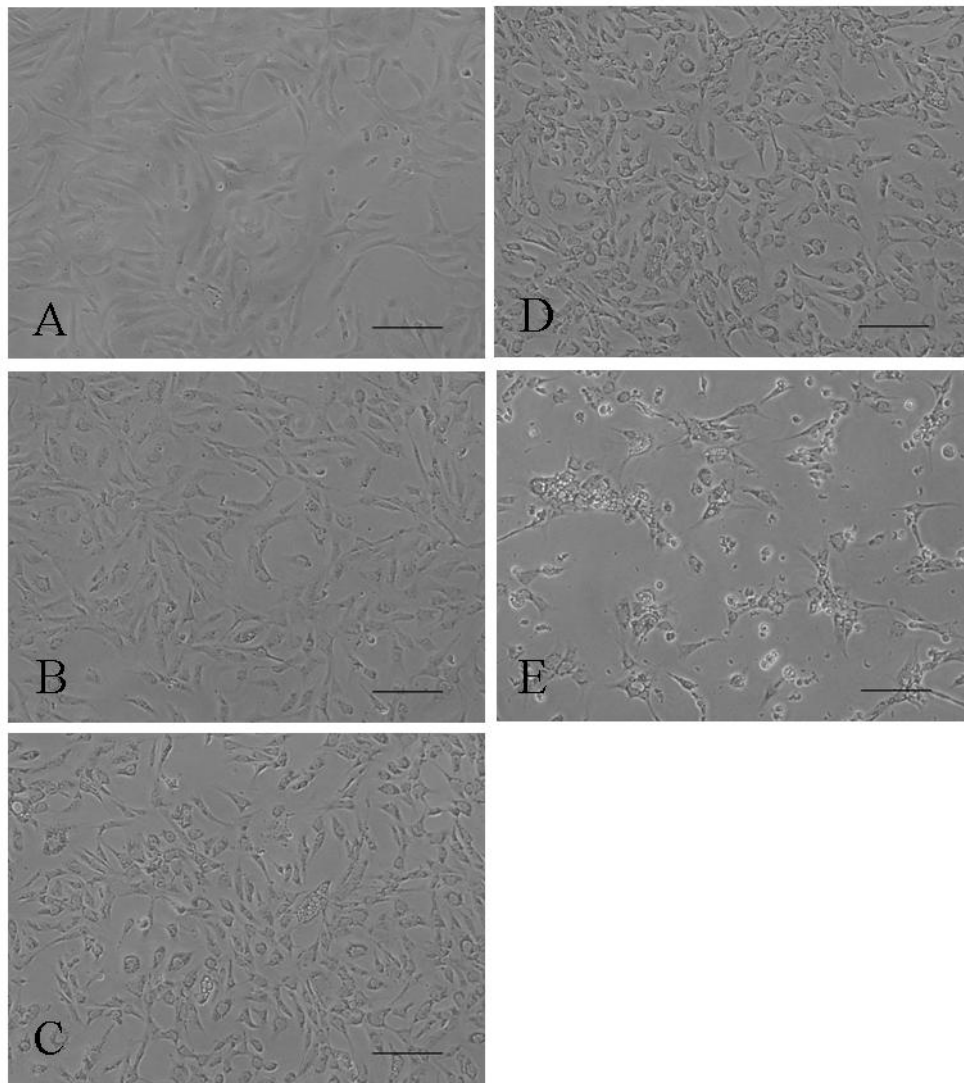


Fig. 2. 海鱷血清對 CF-2 細胞附著弱化的影響。CF-2 細胞接種在含(A) L15-10/0； (B) L15-5/5； (C) L15-2.5/7.5； (D) L15-1.25/8.75 及(E) L15-0/10 等培養基的角瓶中培養 24 小時後的外部形態。尺標=100  $\mu$  m。

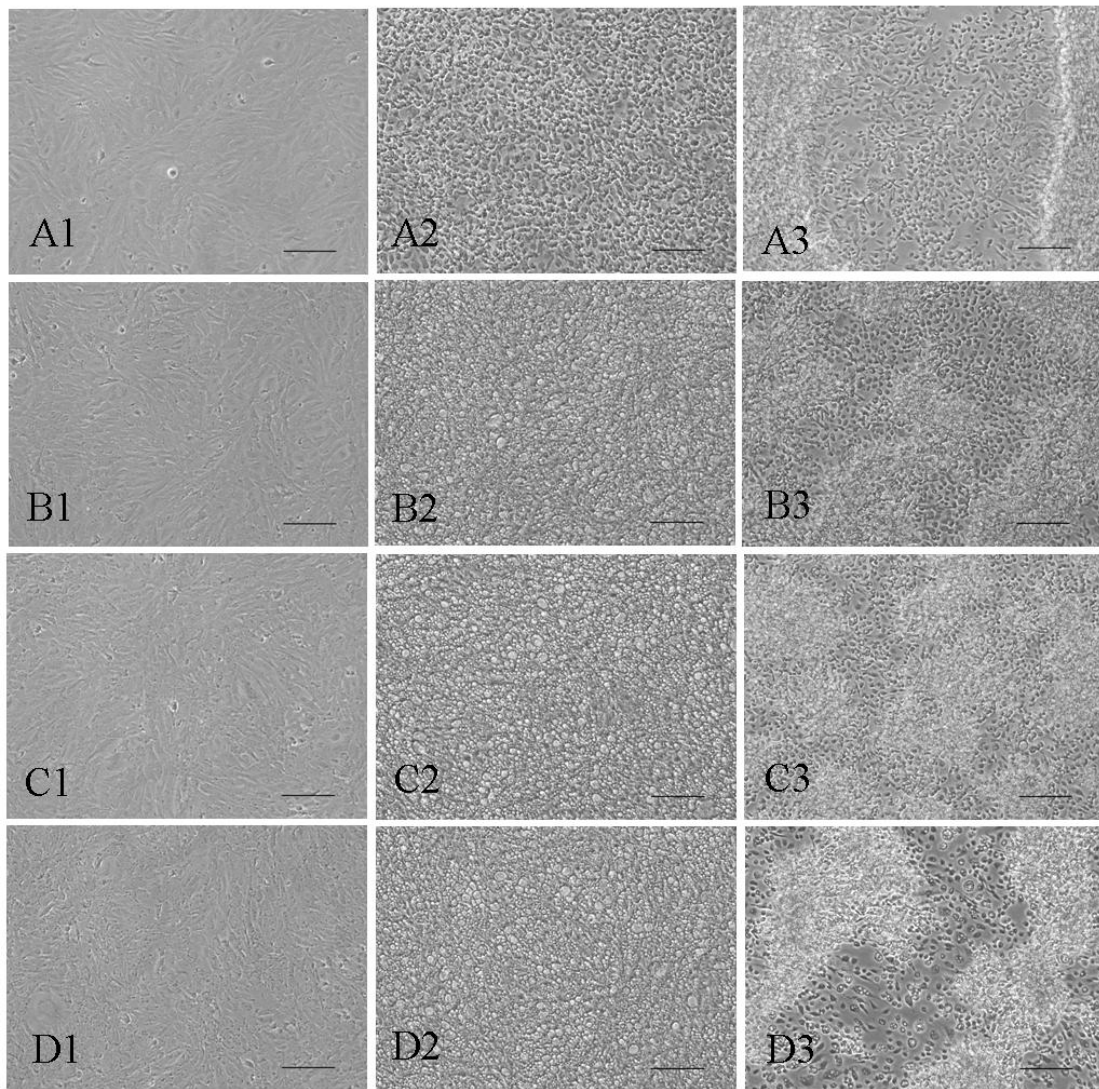


Fig. 3. 海鱷血清對已附著的CF-2細胞有成長有促進作用。A、B、C、D組的培養基分別L15-10/0、L15-5/5、L15-2.5/7.5及L15-0/10；1、2及3則分別為培養1天、6天及6天(胰蛋白酶處理)。尺標 = 100  $\mu\text{m}$ 。



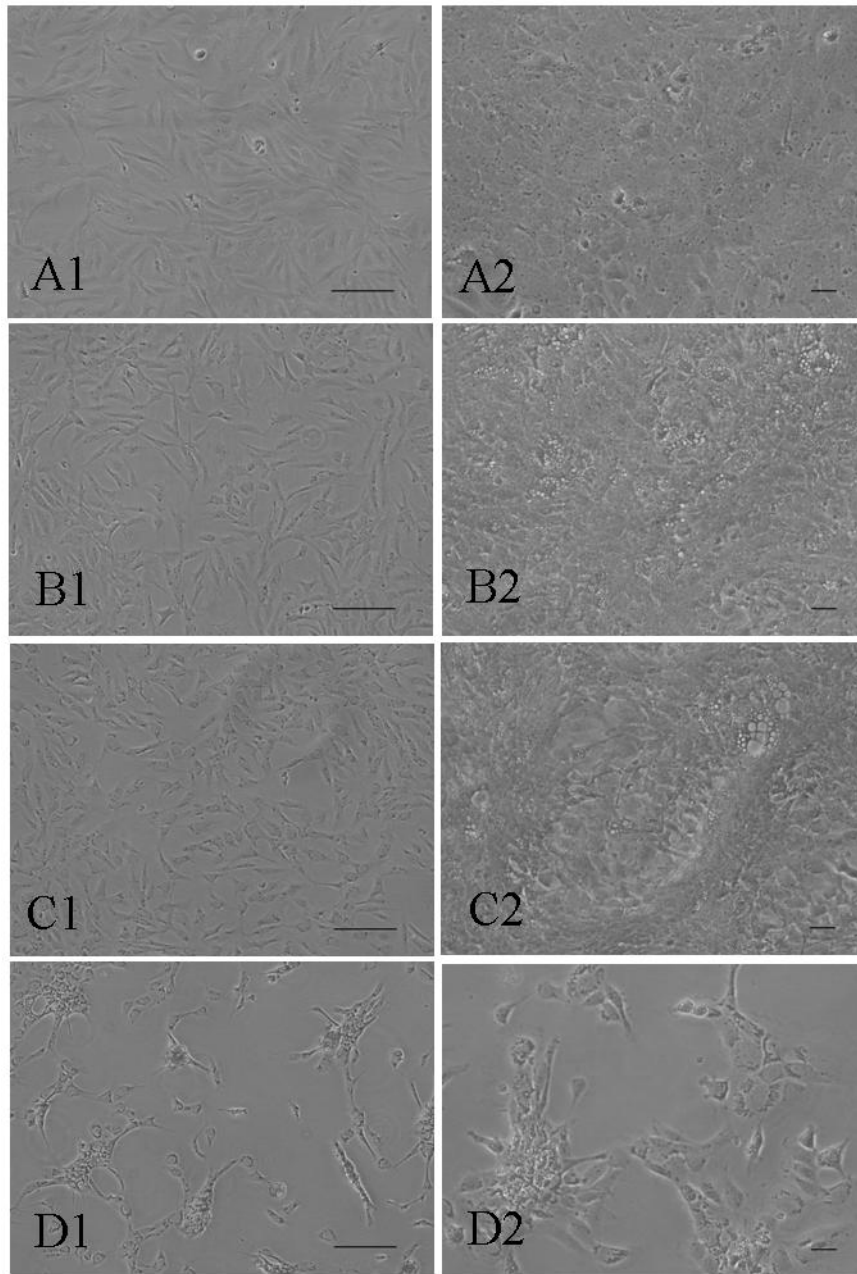


Fig. 4. 海鱷血清對實際培養 CF-2 細胞的影響。A、B、C、D 組的培養基分別 L15-10/0， L15-5/5， L15-2.5/7.5 及 L15-0/10； 1 及 2 分別為培養 1 天及 6 天。尺標 = 100  $\mu$ m 及 50  $\mu$ m。

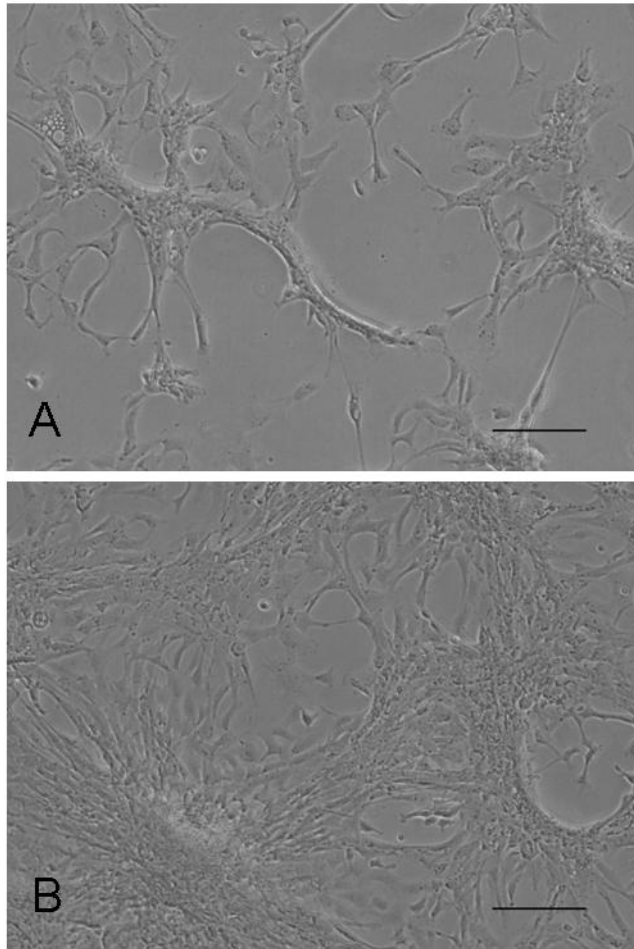


Fig. 5. CF-2 馴化在 L15-1.25/8.75 培養基中的外部型態變化。接種至新角瓶中的細胞分布(A)，細胞密度增加後的分布(B)。尺標 = 100  $\mu\text{m}$ 。

Table 1. 海鱷血清對 CF-2 細胞附著率弱化的影響。

組別	動物血清 (%)		細胞數 (x10 <sup>5</sup> )		附著率 (%)	24 小時後細胞的外觀
	FBS	CS	接種時	24 小時		
1	10	0	5.2	2.70	51.9%	伸展非常良好。
2	5.0	5.0	5.2	2.70	51.9%	伸展良好但多數細胞核週邊出現黑點。
3	2.5	7.5	5.2	2.84	54.6%	適度伸展但幾乎所有細胞核週邊均出現黑點。少數細胞出現空泡。
4	1.25	8.75	5.2	1.36	26.2%	適度伸展但幾乎所有細胞核週邊均出現黑點，出現空泡的細胞較多。
5	0	10	5.2	1.25	24.0%	多數細胞集結成團，附著的細胞沒有伸展，幾乎所有細胞均出現空泡。

註: 1.FBS: fetal bovine serum (胎牛血清), CS: cobia serum (海鱷血清)。 培養溫度為 28°C。

2.細胞直接接種在含各種血清組合之 L15 培養基。

3:實驗為三重複，取其平均值。

Table 2. 海鱷血清對 CF-2 單層細胞成長促進的影響。

組別	動物血清 (%)		細胞數(x10 <sup>6</sup> )		成長倍數	6 天後細胞外觀
	FBS	CS	D <sub>0</sub>	D <sub>6</sub>		
1	10	0	2.5	10.4	4.16	上下層均健康
2	5.0	5.0	2.5	27.1	10.84	上層細胞有空泡
3	2.5	7.5	2.5	29.6	11.84	上層細胞有空泡
4	0	10	2.5	23.0	9.20	上下層均有空泡

註 1:FBS: fetal bovine serum (胎牛血清), CS: cobia serum (海鱷血清)。 培養溫度為 28°C。  
 2:CF-2 先培養在 L15-10 培養基中過夜後, 再分別更換成各種血清組合之 L15 培養基中。  
 3:實驗為三重複, 取其平均值。



Table 3. 海鱷血清對實際培養 CF-2 細胞的影響。

組別	動物血清 (%)		細胞數 (x10 <sup>6</sup> )		成長倍數	6 天後細胞外觀
	FBS	CS	D <sub>0</sub>	D <sub>6</sub>		
1	10	0	1.5	6.62	4.41	少數細胞出現空泡
2	5.0	5.0	1.5	7.14	4.77	較多細胞出現空泡
3	2.5	7.5	1.5	4.60	3.07	更多細胞出現空泡
4	0	10	1.5	0.55	0.37	細胞群聚附著且增生出新細胞。很多細胞出現空泡且細胞核周圍有黑點

註 1:FBS: fetal bovine serum (胎牛血清), CS: cobia serum (海鱷血清)。 培養溫度為 28°C。

2:CF-2 直接接種在含各種血清組合之培養基。

3:實驗為三重複，取其平均值。

## 【評語】 040703

海鱺是澎湖地區之重要箱網養殖及外銷魚種，放血後造成廢棄物及污染水域。由海鱺血液分離血清做為海鱺鰭細胞培養，以替代胎牛血清，可以促進細胞分裂生長，但對附著培養皿仍有困難，可用部分胎牛血清克服，具有血清找到新物種來源，具科學創新及環保價值。單一作者自初三開始實驗工作，每天投入，並且閱讀英文原始論文，是很有興趣及投入之學生，並且結合鄉土重要材料研究之意義。