

中華民國 第 50 屆中小學科學展覽會
作品說明書

國中組 生物科

第三名

030316

無線寬頻 WiMAX 2.4GHz 電磁波對線蟲老化的影響

學校名稱：臺北市立民生國民中學

作者： 國二 巫珮奇 國二 黃鈞暘	指導老師： 蘇恭彥 黃嫦卿
-------------------------	---------------------

關鍵詞：WIMAX、線蟲、氧化壓力

無線寬頻WiMAX 2.4GHz電磁波對線蟲老化的影響

摘要

照射 WiMAX 2.4GHz 功率 1 瓦特的線蟲，從卵發育至 L4 晚期各階段所需的時間均比對照組長。顯示卵發育過程中接受照射電磁波會減緩其發育速度。從 L1 發育到 L4 延遲 8.25 小時是延遲最多的一個發育階段；但從 L4 晚發育至成蟲所需的時間卻比對照組短。卵發育過程中接受照射會減少其壽命。照射 10 小時組壽命縮短了 4.48 天，縮短了 30% 的壽命。實驗組 SOD 與 CAT 活性都比對照組低；時間愈長，SOD 活性愈低，可看出氧化壓力的傷害有累積效果，但非線性倍增的關係。顯示 WiMAX 確實會降低體內抗氧化酵素的活性，對正在發育中的線蟲產生氧化壓力。也會延遲嗅覺恢復正常，造成其被捕食的機率增加以及尋找到正確食物的機率減低。

壹、研究動機

我們的生活週遭充滿著電磁波，這些能量雖然看不見，卻可能影響著我們的健康。今日有無數的研究報告在探討手機電磁波對人體的影響，但從事電磁場相關研究的研究人員，目前也仍在暴露時間的設計、信號強度的測量以及標準化上常有爭議。許多研究者挑選手機（頻率為 1800MHz），作為電磁場(electromagnetic field；EMF)的訊號來源。然而，一種新的區域無線網路技術 WiMAX（Worldwide Interoperability for Microwave Access，全球微波存取互通性）已趨成熟。

WiMAX 技術今年我國將正式用在無線網路通訊上，這也意味著我們將 24 小時都將暴露在此頻率的電磁波環境中，屆時必引起更多的擔心及討論！因此，我們希望藉由線蟲這種模式動物，來研究 WiMAX 電磁波對生物體的影響！

課程相關：

自然與生活科技（二）第一章、生殖	第二章第三節 遺傳變異
自然與生活科技（三）第二章、波動與聲音	第三章、光
自然與生活科技（五）第一章、電磁感應	第二章、電流磁效應

貳、研究目的

- 一、WiMAX 的頻率為何？是否會對人體造成輻射性的傷害？
- 二、探討 WiMAX 2.4GHz 電磁波是否會影響線蟲生命週期與壽命。
- 三、探討 WiMAX 2.4GHz 電磁波是否會對線蟲產生氧化壓力。
- 四、WiMAX 2.4GHz 電磁波是否會促使線蟲發育至抗逆境狀態(Dauer)？
- 五、發育早期受到的氧化壓力是否會促使線蟲產生更多雄性子代？
- 六、探討 WiMAX 2.4GHz 電磁波是否會影響線蟲的嗅覺反應。

參、研究背景

一、線蟲介紹

我們以秀麗隱桿線蟲 N₂野生株(*Caenorhabditis elegans*；*C. elegans*)為實驗對

象。線蟲一生大約可以分為幾個時期：L1、L2、L3、L4 以及 Adult。一隻線蟲成蟲大約 1mm 長，雄性比例極低，且多為雌雄同體。平常生活在 20°C 到 33°C 的環境，可以在土壤內廣泛找到。線蟲生命開始時只有單一細胞，不斷分裂增殖到一千多個細胞，再經細胞凋亡過程，最後總數為 959 個細胞，擁有複雜的器官、組織，具有神經、消化和生殖系統。在食物缺乏的惡劣情形下，線蟲會進入 dauer 時期。此時蟲子不吃東西，口及生殖管會封住，以延長它的壽命。線蟲體積小且方便觀察細胞分裂情形，是非常適合作為研究基因的模式生物。

二、操作線蟲技術

1. 塊移 (Chunk)

- (1) 開啓無菌操作臺。
- (2) 使用已滅菌的解剖刀切下一塊上面有些許線蟲的洋菜膠。
- (3) 將切下來的洋菜膠，有蟲的一面朝下，置入新的 NGM 培養基。

2. 遷移 (Transfer)

- (1) 先將挑蟲器以高溫消毒。
- (2) 待白金絲冷卻數秒。
- (3) 在顯微鏡下，將目標線蟲用挑蟲器輕輕挑至新的培養基中。
- (4) 再次將挑蟲器過火消毒，避免遺留線蟲殘留物。



圖一 塊移 (Chunk)



圖二 遷移 (Transfer)

3. M9 緩衝液 (M9buffer)

M9 buffer 製作：

量取 KH_2PO_4 3g、 Na_2HPO_4 6g、 NaCl 5g，加入 dH_2O 至 1 公升

將溶液進行 Autoclave(高溫高壓殺菌)

調配 1M MgSO₄ 1mL，再以 0.22μ m 孔徑的 filter 過濾，並加入溶液

M9 buffer 功用：

M9 buffer 有緩衝劑的作用，線蟲可在 M9 buffer 中停留較久的時間，因此在分配卵或移動線蟲時都有可能將線蟲以 M9 buffer 沖下並暫時存放在 M9 buffer 中。實驗中也利用 M9 buffer 洗掉蟲體身上的大腸桿菌以及菌液，或蟲卵殘留的溶蟲溶液。

4. 溶蟲液

溶蟲液製作：

調配 5% NaOCl 80μ l、10N NaOH 60μ l，加入 ddH₂O 至 1ml

溶蟲液功用：

溶蟲液能溶解線蟲卵以外的蟲體，這樣就可以取得大約同齡的卵，發育成同齡線蟲，減少實驗變因。

5. 細胞破碎緩衝液 (lysis buffer)

lysis buffer 配方：

50mM HEPES, pH7.4

1 mM EGTA

1 mM MgCl₂

100mM KCl

10% glycerol

0.05% NP-40

最後加入 Protease inhibitor

三、WiMAX

WiMAX 的頻率從 2~6 Ghz 不等，我國目前採用的頻率為 2.4GHz。雖較現有手機頻率 (1800MHz) 為高，但在電磁波頻譜中仍然屬於微波的範圍，不是游離性輻射，依現有的醫學知識來說，不對人體產生跟紫外光一樣的輻射性的傷害。

四、超氧化物歧化酵素 (Superoxide Dismutase ; SOD)

超氧化物歧化酶，是一種能夠歧化超氧自由基，轉化為氧氣和過氧化氫的酶。它廣泛存在於各類動物、植物、微生物中，是一種重要的抗氧化劑。

肆、研究設備及器材

一、設備器材

- (一) 電磁波產生器
- (二) 天線
- (三) 無反射室實驗室
- (四) 無菌操作台
- (五) 挑蟲器
(以白金絲和玻璃管製成，移動線蟲的工具，以下簡稱 picker)
- (六) 解剖刀及相關器具
- (七) 微量離心管
- (八) 桌上型離心機
- (九) 酒精燈
- (十) 線蟲培養基 (Nematode Growth Medium ; NGM)
- (十一) 紫外光－可見光分光光度計
- (十二) 超音波破碎機
- (十三) 震盪器
- (十四) 細胞刮除器
- (十五) 微量滴管、微量吸頭

二、化學藥品

- (一) M9 buffer
- (二) 溶蟲液
- (三) 鄰苯三酚 (pyrogallol)
- (四) lysis buffer
- (五) phosphate buffer
- (六) Tris-HCl buffer



圖三 解剖顯微鏡下的線蟲

三、實驗生物

- (一) N2 野生株線蟲 (*Caenorhabditis elegans* ; *C. elegans*)
- (二) 大腸桿菌 (*Escherichia coli* OP50 ; *E. coli*)

伍、研究過程

實驗一：探討WiMAX電磁波對線蟲生命週期與壽命是否有所影響。

(一) 實驗設計

實驗組分別放置於無反射室的天線前，以WiMAX 2.4GHz 持續照射 6 小時 (WiMAX 6)、8 小時 (WiMAX 8)、10 小時組 (WiMAX 10)，對照組放置於無反射室的天線前但不照射電磁波。觀察線蟲是否會因為照射電磁波而影響生命週期、壽命長短。

(二) 實驗過程

1. 以微量滴管吸取M9 buffer 200 μ l至線蟲培養基。
2. 使用細胞刮除器將線蟲刮至培養基角落，吸取培養基中的M9 buffer及線蟲至微量離心管中，加入M9 buffer至 1ml。
3. 上下搖晃微量離心管，使其中的溶液均勻混合。
4. 將之放入桌上型離心機離心約 20 秒，以微量滴管吸去溶液上清液。重複此步驟 2 次，以洗去線蟲身上的大腸桿菌等。
5. 以微量滴管吸取溶蟲液 1ml至微量離心管中，上下搖晃，靜置約 4 分鐘，以溶解蟲體取得蟲卵。
6. 放入桌上型離心機離心約 20 秒，以微量滴管吸除溶液上清液。
7. 以微量滴管吸取M9 buffer 1ml至微量離心管中，上下搖晃。
8. 將之放入桌上型離心機離心約 20 秒，吸除溶液上清液。重複此步驟 2 次，以洗去蟲卵殘留的溶蟲液。
9. 加入M9 buffer至 1ml，以 100 μ l微量滴管吸取含有蟲卵的溶液並平均分配至 16 個新的線蟲培養基內，將所有培養基放入攝氏 25 度保溫箱培養。
10. 線蟲放入保溫箱約 46 小時，卵孵化發育至Adult階段，將其中 6 盤線蟲放入無反射實驗室內接受頻率 2.4GHz，功率 1W，的定量電磁波照射，其餘 2 盤為對照組。
11. 照射 6 小時後，取出 4 盤線蟲培養基，以上述之步驟 1~8 處理以取得純粹的蟲卵。以微量滴管將微量離心管內M9 buffer加至 1ml，再將包含蟲卵

之溶液加入新的線蟲培養基內培養。

12. 照射 8 小時後，重複步驟 11

13. 照射 10 小時後，重複步驟 11。

14. 記錄當下時間，之後每半小時記錄所有線蟲之生長狀況及死亡隻數。



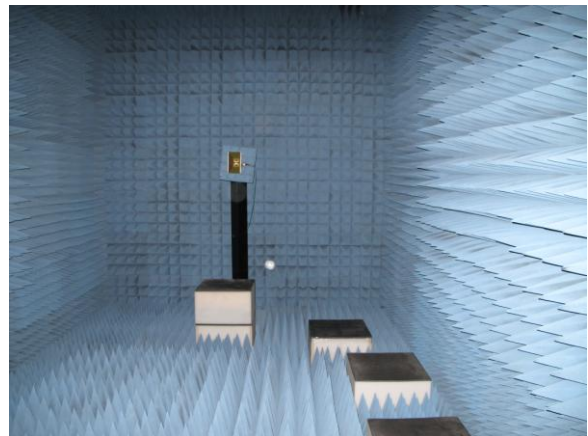
圖四 我們的天線與實驗組線蟲



圖五 準備進入無反射室



圖六 將天線架設在發射器上接受頻率 2.4GHz，功率 1W，的定量電磁波照射



圖七
顯微鏡下正在分裂的卵細胞

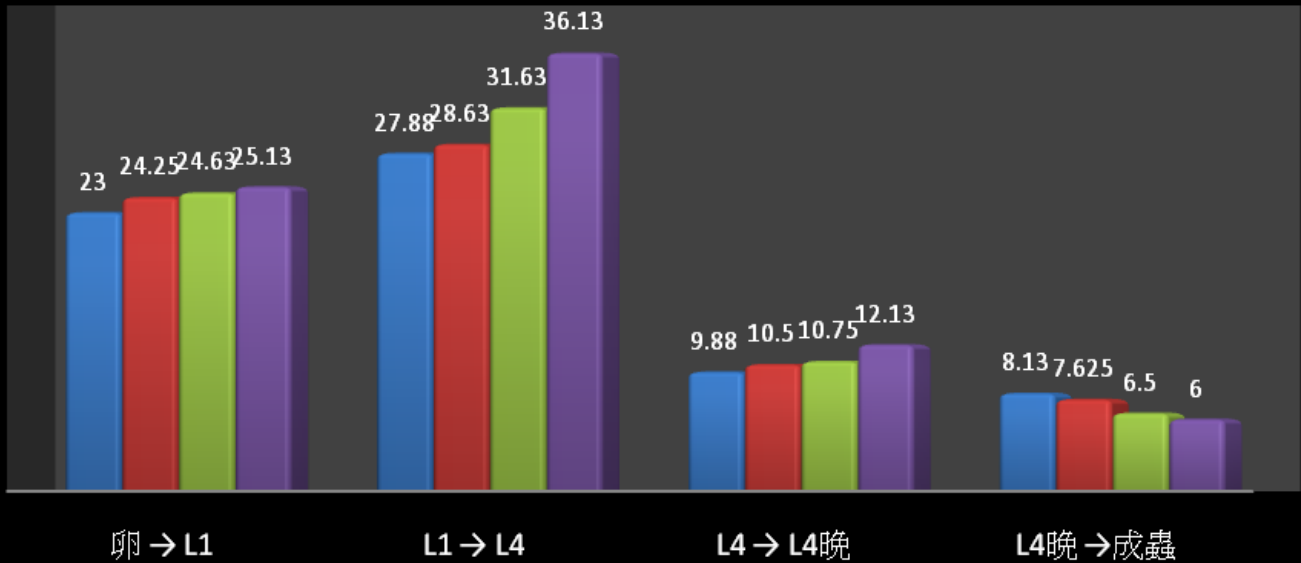
(三) 結果分析

項目 組別	卵 → L1 → L4 → L4 晚 → 成蟲 → 80%死亡				天數	生命週期 總時數
	時數					
對照組	23.0	27.5	10.0	8	14.8	68.5
	22.5	28.0	9.5	8.5	14.8	68.5
	23.5	28.0	10.0	8.0	14.8	69.5
	23.0	28.0	10.0	8.0	14.9	69.0
平均	23.0	27.88	9.88	8.13	14.83	68.88
WiMAX 6hr	24.0	28.5	10.5	7.5	14.2	70.5
	24.0	28.5	10.5	7.5	14.2	70.5
	24.5	28.5	10.5	7.5	14.1	71.0
	24.5	29.0	10.5	8	14.2	72
平均	24.25	28.63	10.5	7.625	14.18	71.0
WiMAX 8hr	25.0	30.5	10.5	6.5	10.8	72.5
	24.5	33.0	10.5	6.5	10.7	74.5
	24.5	31.5	11.0	6.5	10.8	73.5
	24.5	31.5	11.0	6.5	10.7	73.5
平均	24.63	31.63	10.75	6.5	10.75	73.5
WiMAX 10hr	24.5	35.5	12.5	6.0	10.4	78.5
	25.0	36.0	11.5	6.0	10.3	78.5
	25.5	36.5	12.0	6.0	10.3	80
	25.5	36.5	12.5	6.0	10.4	80.5
平均	25.13	36.13	12.13	6.0	10.35	79.38

表一 從卵發育至成蟲各階段所需要的平均發育時數與 80%線蟲可存活的天數。

各時期所需的發育時數比較圖

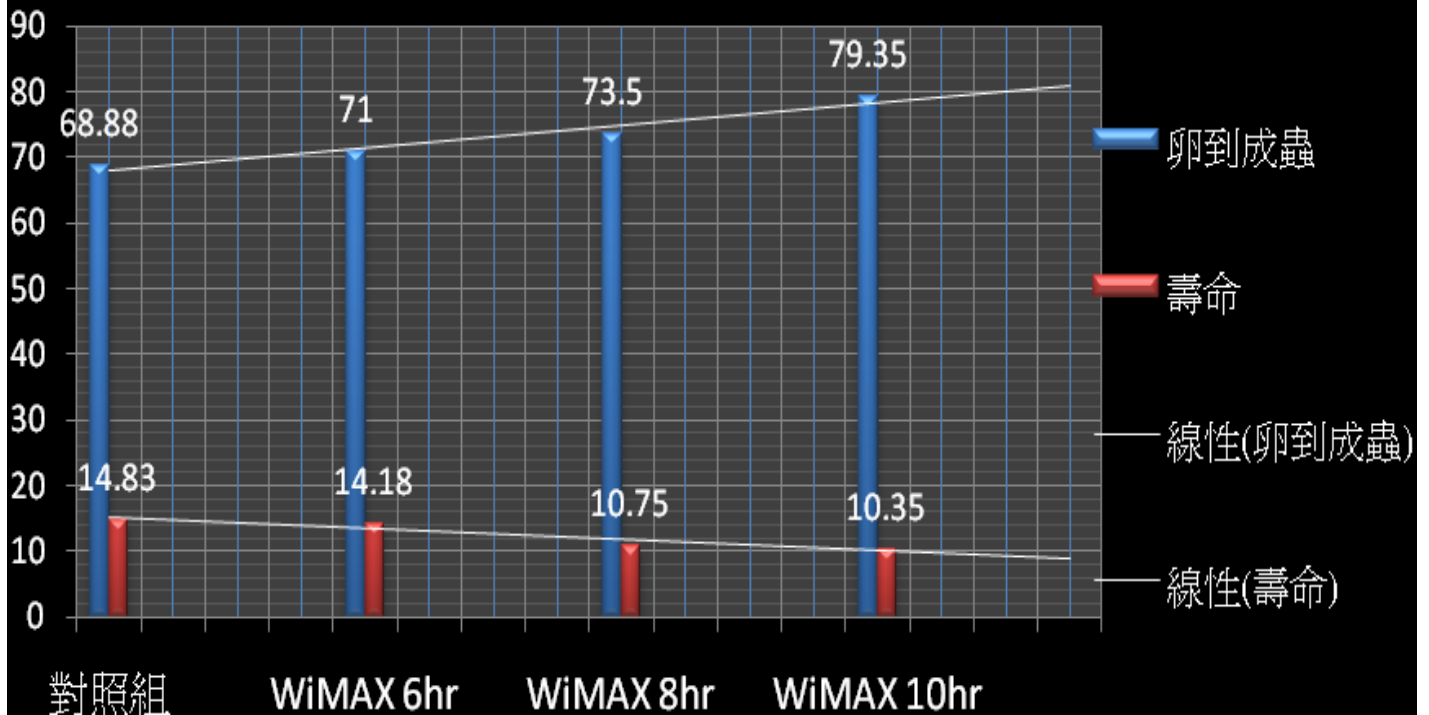
■ 對照組 ■ WiMAX 6hr ■ WiMAX 8hr ■ WiMAX 10hr



討論：

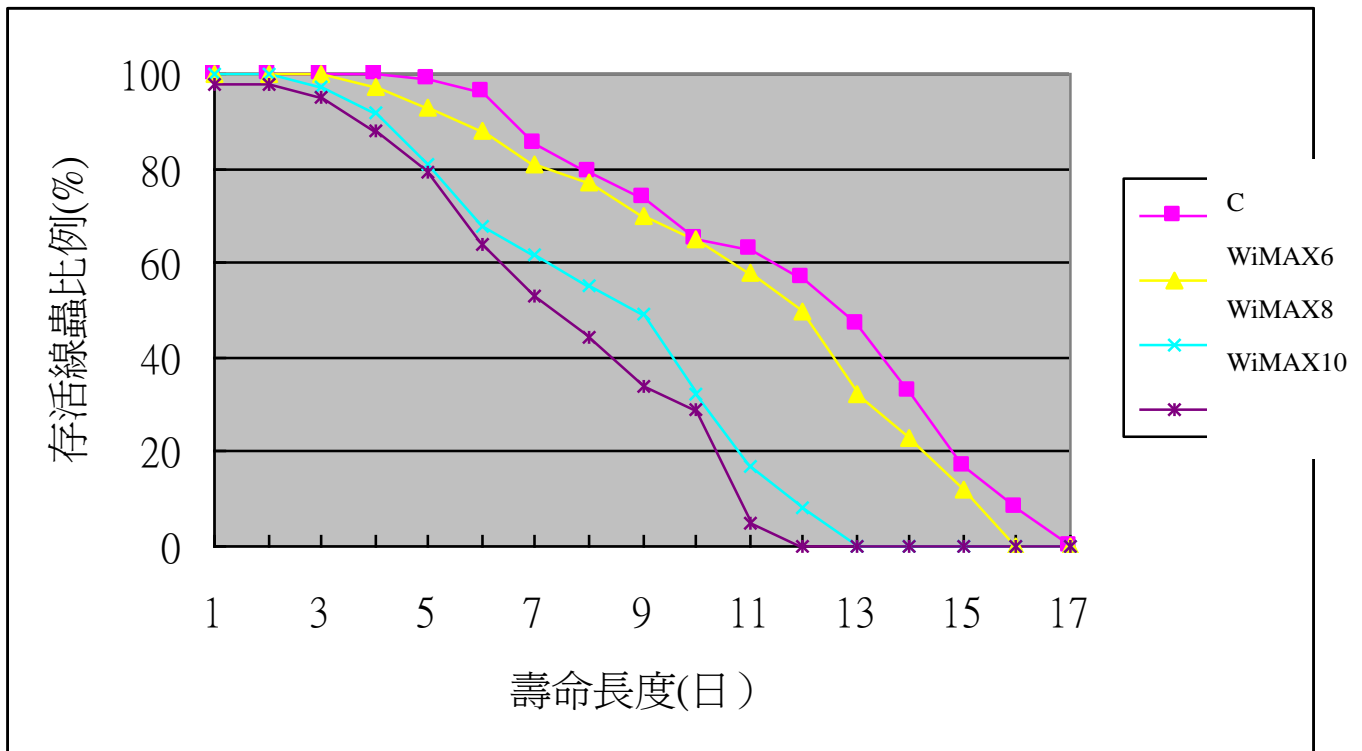
- 1.上圖可知：WiMAX 6hr、WiMAX 8 hr、WiMAX 10hr三組，其生命週期中，從卵發育至L4 晚期，各個階段所需的時間，均比對照組所需更多的時間。顯示卵發育過程中接受照射電磁波會減緩其發育速度。而照射時間越長，影響越明顯。
- 2.從卵發育到L1 最多延遲 2.13 小時，從L4 發育到L4 晚期最多延遲 2.25 小時。從L1 發育到L4 最多延遲 8.25 小時，是延遲最多的一個發育階段。
- 3.WiMAX實驗組，從L4 晚發育至成蟲，所需的時間，均比對照組短，且照射時間越長，提前 的效應越明顯，所需要的時間最多縮短 2.13 小時。
- 4.經由影片分析，可以看出對照組與實驗組，其卵的細胞分裂速度有明顯的時間差異。

生命週期與壽命比較圖



討論：

1. WiMAX 6hr、WiMAX 8 hr、WiMAX 10hr 三組，其生命週期中，生長發育所需的時間均較對照組所需時間久，其中又以 WiMAX 10hr 為最久，需費 79.35 小時，足以顯示此電磁波的確足以對生物體構成顯著的氧化壓力。
2. 圖中顯示的壽命長度是以 80%線蟲的壽命長度為代表。實驗組的壽命均較對照組短。
3. WiMAX 10hr 組壽命縮短了 4.48 天，相當於縮短了 30%的壽命。表示此電磁波會促使線蟲老化。
4. 在完成生命週期所需的時間，實驗組較對照組需要更多的時間來完成發育，但是一旦發育成成蟲後，卻會提早老化，造成壽命均較對照組短的結果。



由上圖據得知：對照組最長可以活 17 天，WiMAX 6hr 組最長可以活 16 天、WiMAX 8 hr 組最長可以活 13 天、WiMAX 10hr 組最長只能活 12 天。WiMAX 實驗組，壽命均較對照組短，其中 WiMAX 10hr 組縮短了 5 天，相當於縮短了 30% 的壽命。顯示卵發育過程中接受照射會減少線蟲壽命。

實驗二：探討 WiMAX 的電磁波是否會對線蟲產生氧化壓力。

(一) 實驗設計

分為兩組（卵組、成蟲組）進行實驗，兩組下皆設計有三組實驗組，實驗組分別放置於無反射室的天線前，以 WiMAX 2.4GHz 持續照射 6 小時（WiMAX6）、8 小時（WiMAX8）、10 小時組（WiMAX10），對照組放置於無反射室的天線前但不照射電磁波。分別測定線蟲體內的抗氧化酵素 SOD 與 CAT 的活性。

(二) 實驗過程

1. 與實驗一的步驟 1~10 相同。
2. 照射 6 小時後，取出兩盤線蟲，一盤是卵組，一盤是成蟲組。將卵組的線蟲培養基以上述之步驟 1~8 處理以取得蟲卵，並至於微量離心管內。

3. 將成蟲組的線蟲以picker全數挑入微量離心管中。
4. 照射 8 小時後，重複步驟 11、12。
5. 照射 10 小時後，重複步驟 11、12。
6. 將上述所有微量離心管加入 3 倍體積的lysis buffer，分批以超音波細胞破碎機vortex 30s，放冰上 1min。重複 20 次，進行細胞均質與破碎。高速離心 15min後取上清液極為均質液。

(三) 抗氧化能力分析

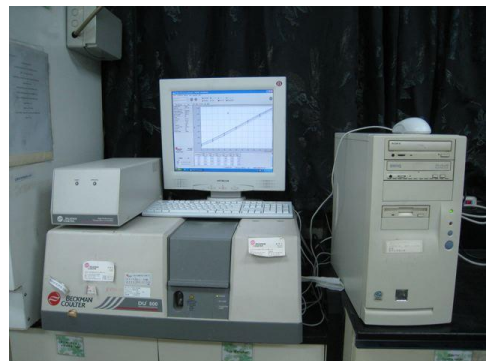
1.超氧化物歧化酵素 (Superoxide dismutase, SOD) 活性測定

原理：

以鄰苯三酚 (pyrogallol) 氧化受抑制原理來定量SOD活性。Pyrogallol在 pH小於7的環境很穩定，但若在大於7的環境中則會有自身氧化的情況，且會產生超氧陰離子，同時以一定速度生成橙色的紅桔酚，若此時有SOD的存在則會將超氧陰離子歧化，因而抑制pyrogallol自身氧化的速率，可由此原理換算SOD之活性。一單位SOD酵素活性定義為抑制50 % pyrogallol自身氧化速率的酵素量。

步驟：

方法參考Marklund等人(1974)方法，每組取100 μ l 稀釋後組織均質液，加入800 μ l 50 mM Tris-HCl buffer，另取100 μ l 50 mM phosphate buffer當作空白組，加入 100 μ l 10 mM pyrogallol，以紫外光－可見光分光光度計 (UV-Vis spectrophotometer) 於420 nm測一分鐘內每10秒吸光值變化，一單位酵素活性(unit, U)定義為每分鐘可使 pyrogallol自氧化速率減少50%所需的酵素量。



圖八 透過分光光度計協助我們分析紅桔酚的濃度，以推算 SOD 的活性

SOD 活性換算公式：

$$\text{SOD(U/mg protein)} = \frac{(\Delta A/\text{min} - \Delta A' /\text{min})}{\Delta A/\text{min}} \times \frac{\text{反應總體積}}{\text{sample 體積}} \times \text{稀釋倍數} \times \frac{1}{\text{蛋白質濃度}}$$

ΔA ：空白組第 60 秒 420 nm 吸光值-第 0 秒 420 nm 吸光值

$\Delta A'$ ：實驗組第 60 秒 420 nm 吸光值-第 0 秒 420 nm 吸光值

2. 過氧化氫酵素 (Catalase, CAT) 活性測定

原理：

H₂O₂在CAT作用下會分解水和氧氣，在波長240 nm時H₂O₂有最大吸光值，H₂O₂在CAT 存在下逐漸減少其吸光值。以單位時間內吸光值之變化量，可測得CAT活性，一單位CAT定義為每分鐘H₂O₂所消耗的量。

步驟：

方法參考自Aebi (1983)之方法。每組取125 μ l組織均質液，加入875 μ l 50 mM phosphate buffer，並取125 μ l 50 mM phosphate buffer當作空白組，加入500 μ l 2 mM H₂O₂，以紫外光－可見光分光光度計(UV-Vis spectrophotometer) 於 240 nm測一分鐘內每10秒吸光值變化，一單位酵素活性(unit, U)定義為在25 °C下每分鐘可消耗1 mmol H₂O₂的酵素量。

活性換算公式：

$$\text{CAT(U/mg protein)} = \frac{\Delta A}{\text{minute(min)}} \times \frac{1}{40(\text{吸光係數})} \times \text{稀釋倍數} \times \frac{1}{\text{蛋白質濃度}}$$

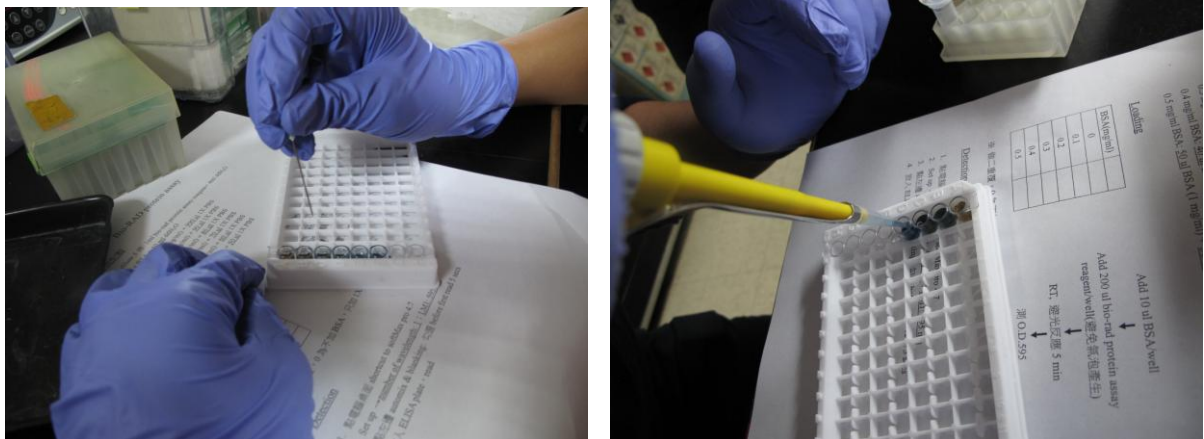
ΔA ：第 0 秒 240 nm 吸光值-第 60 秒 240 nm 吸光值

原理：

蛋白質於鹼性環境下(pH > 7)會將二價銅離子(Cu^{2+})還原成單價銅離子(Cu^+)，而BCA 試劑(試劑 A 與試劑 B 混合)會與單價銅離子形成紫色錯合物，利用蛋白質濃度越高，錯合物吸光值越高，利用內插法之標準曲線求出組織蛋白質濃度。

步驟：

組織蛋白質定量以市售之組合試劑(BCA, Pierce Co., Ltd)檢測並定量，利用 phosphate buffer(50mM, pH7.4)將組織均質液稀釋 15 倍，取 10 μl 的稀釋液加入 490 μl ddH₂O 和 1 ml BCA 試劑，均勻混合後室溫下靜置 2 小時，測 562 nm 之吸光值，對照標準曲線以內插法換算組織均質液所含蛋白質濃度 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)。



圖九 將配置不同系列濃度的蛋白溶液

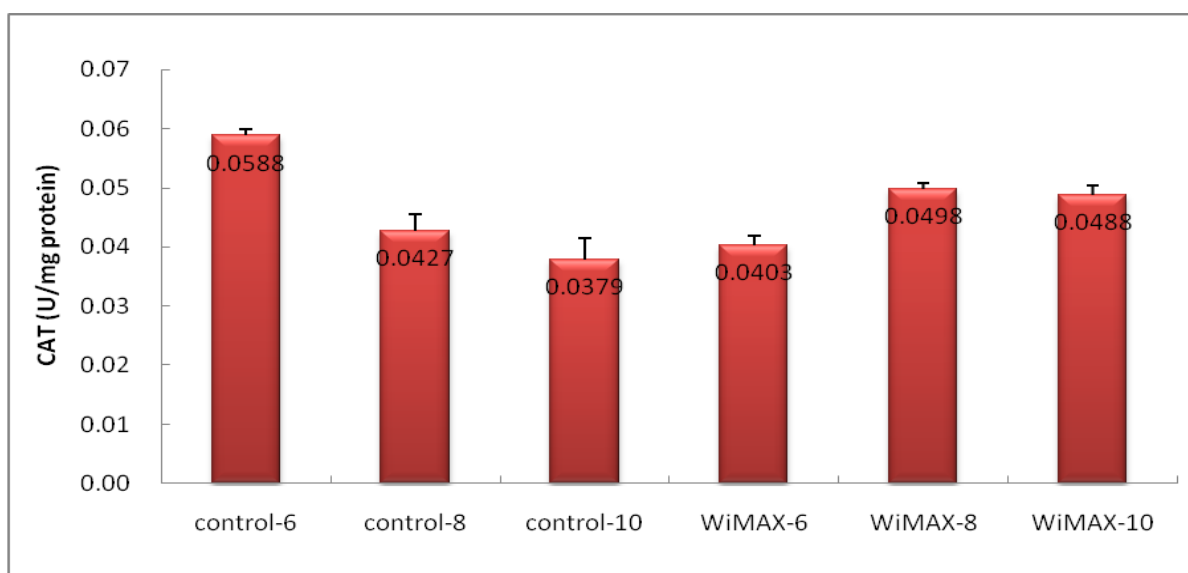
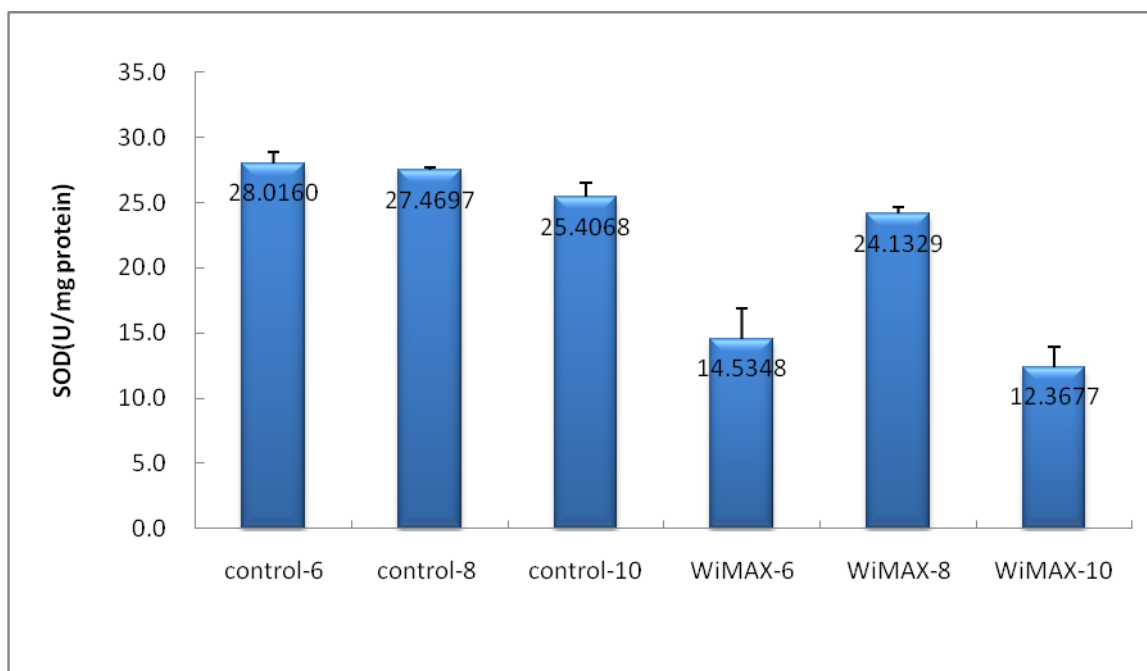
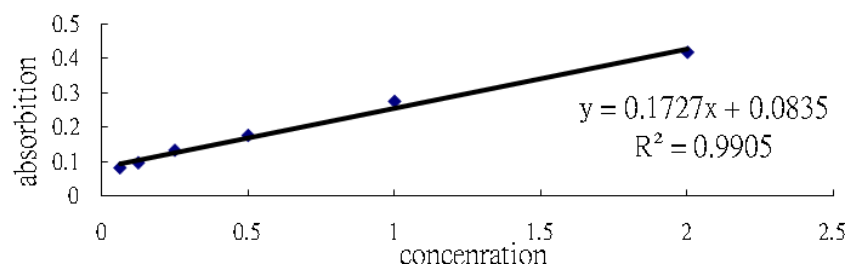


圖十 將配製好的已知濃度蛋白溶液透過分光光度計計算其對應的吸光值。以建立蛋白質定量標準曲線

(三) 結果分析

卵組

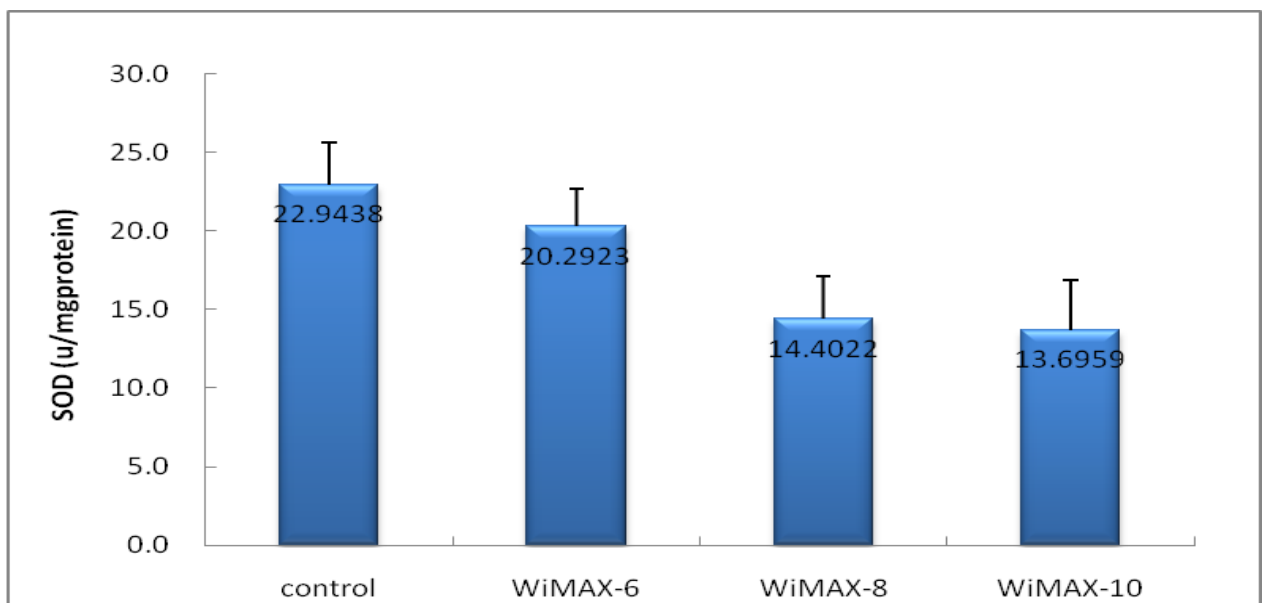
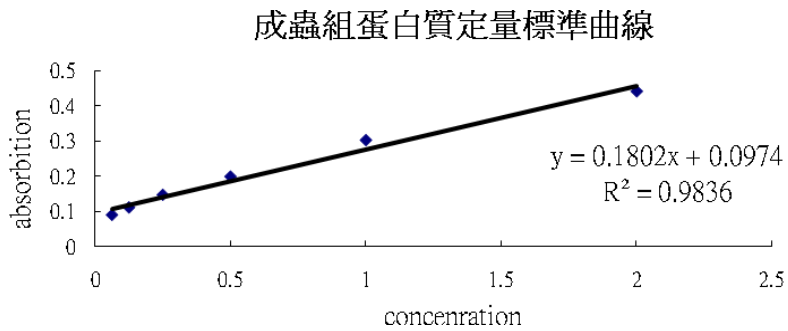
卵組蛋白質定量標準曲線

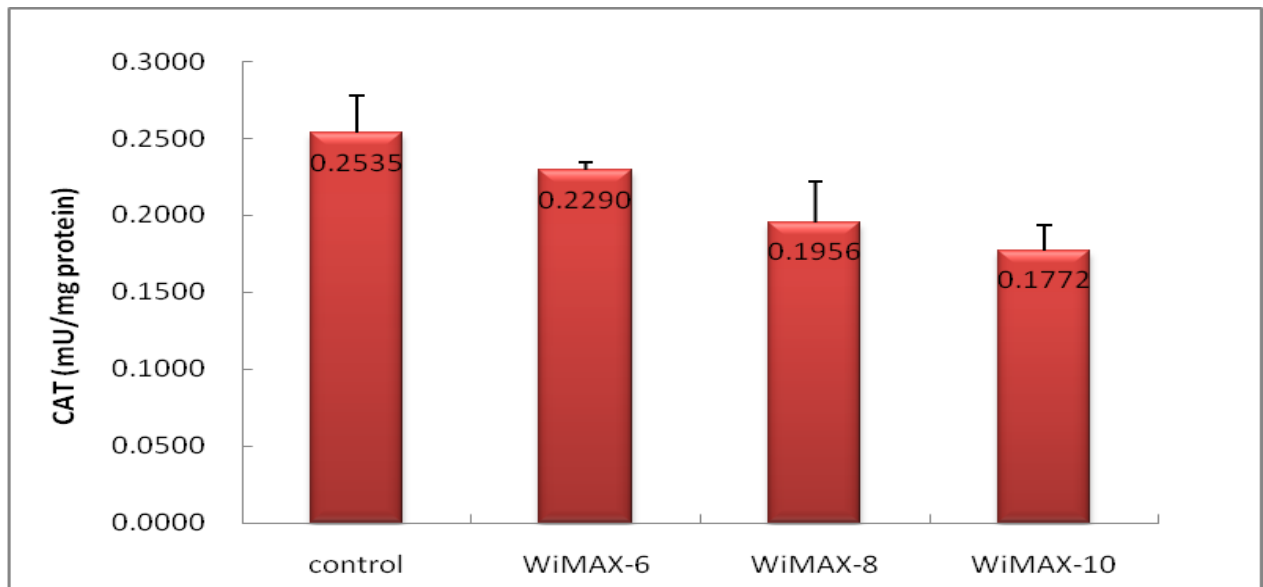


討論

- 1.由上圖數據得知：WiMAX 6hr、WiMAX 8 hr、WiMAX 10hr 三組，其體內抗氧化酵素 SOD 的活性均比對照組低，其中又以 WiMAX 10hr 為最低，足以顯示此電磁波的確足以對生物體構成顯著的氧化壓力。
- 2.WiMAX 8 hr 的 SOD 雖然也低於對照組，但是較 WiMAX 4hr、WiMAX 16hr 兩組為高。這可能是一種誘發回補作用的結果。
- 3.WiMAX 6hr、WiMAX 8 hr、WiMAX 10hr三組，其體內抗氧化酵素CAT的活性有增加的趨勢，而對照組的CAT酵素活性卻是下降，表示兩者所用到的解毒系統可能不相同。

成蟲組





討論

1. 由上圖數據得知：WiMAX 6hr、WiMAX 8 hr、WiMAX 10hr 三組，其體內抗氧化酵素 SOD 的活性均比對照組低，其中又以 WiMAX 10hr 為最低，足以顯示此電磁波的確足以對生物體構成顯著的氧化壓力。
2. WiMAX 6hr、WiMAX 8 hr、WiMAX 10hr 三組，其體內抗氧化酵素 CAT 的活性隨時間有遞減的趨勢。

實驗三： WiMAX 電磁波對線蟲是否屬於一種逆境？

(一) 實驗設計

實驗組分別放置於無反射室的天線前，以 WiMAX 2.4GHz 持續照射 6、8、10、12、14、16、18、20、22 小時，對照組放置於無反射室的天線前但不照射電磁波。觀察線蟲是否會因為照射電磁波而誘發的氧化壓力促使發育至 dauer 抗逆境狀態？以及產生更多雄性成蟲線蟲？

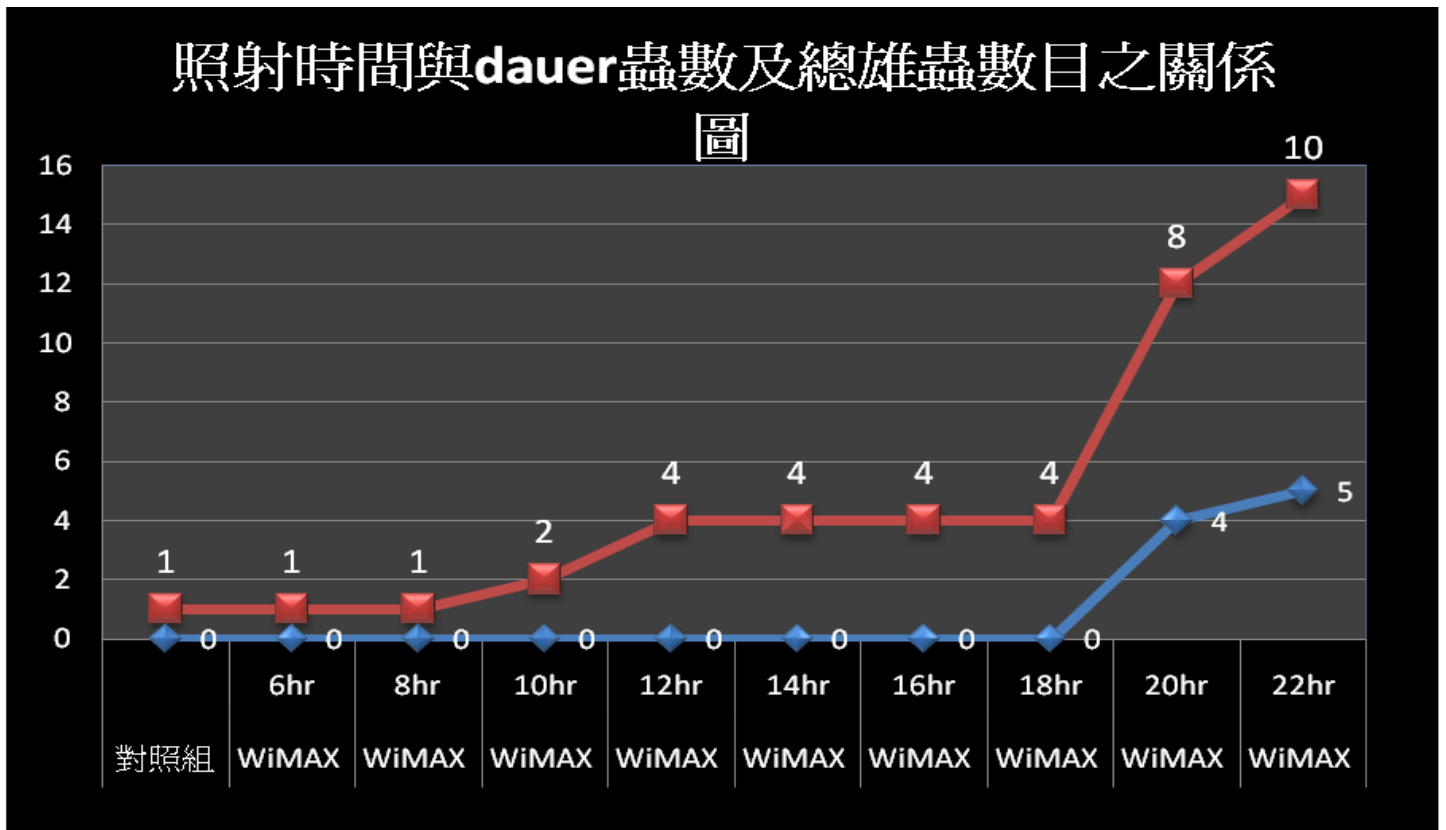
(二) 實驗過程

1. 如實驗一。
2. 觀察是否有 dauer 狀態的未成熟線蟲出現。
3. 觀察發育出來的線蟲成蟲其雄性蟲占族群的比例。

(三) 結果分析

	對照組	WiMAX 6hr	WiMAX 8hr	WiMAX 10hr	WiMAX 12hr	WiMAX 14hr	WiMAX 16hr	WiMAX 18hr	WiMAX 20hr	WiMAX 22hr
雄性成蟲比例	1/800	1/800	2/800	2/800	4/800	4/800	4/800	4/800	4/800	5/800
Dauer 蟲	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5
Dauer 蟲發育成的雄蟲	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5
總雄性蟲數	1	1	1	2	4	4	4	4	8	10

照射時間與dauer蟲數及總雄蟲數目之關係圖



討論：

1. 隨著照射 Wimax 電磁波的時間累積，會使線蟲產生更多雄性子代。照射 22 小時組，雄蟲比例增加了 5 倍。
2. 照射 20 小時與 22 小時組，開始有 dauer 蟲出現，而且經過分離培養，其發育成爲成蟲後均爲雄性。顯示長時間照射電磁波對線蟲來說確實爲一種生存壓力。

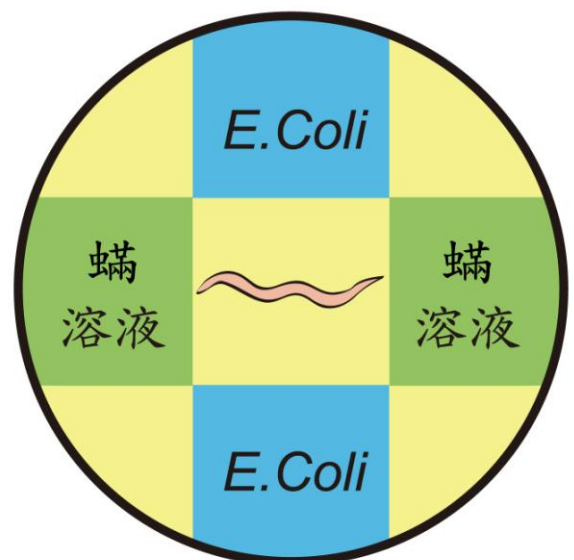
實驗四： WiMAX 電磁波是否會影響線蟲的嗅覺反應？

（一）實驗設計

實驗組分別放置於無反射室的天線前，以 WiMAX 2.4GHz 持續照射 6、8、10、12 小時，對照組放置於無反射室的天線前但不照射電磁波。觀察線蟲是否會因爲照射電磁波而對食物（E.coli OP50）及天敵（蠕）的反應發生變化，來瞭解線蟲的嗅覺反應是否有發生改變。

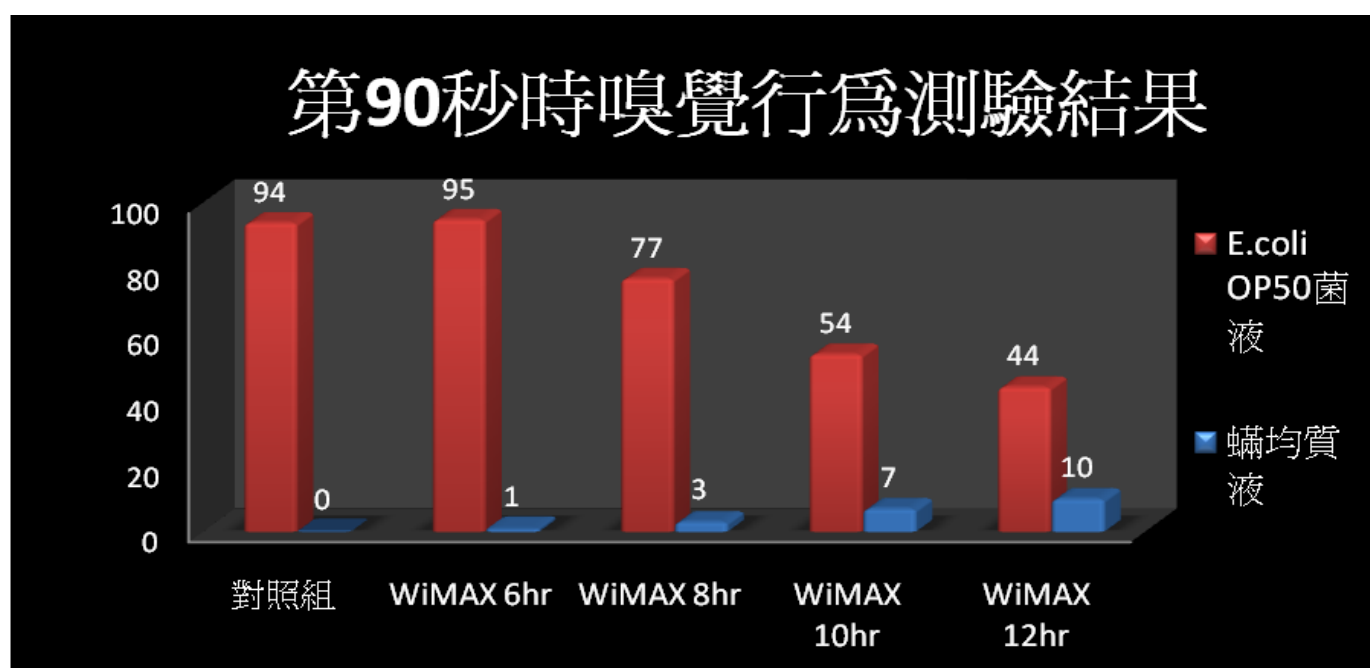
（二）實驗過程

1. 如實驗一的方法，得到身上無菌的成蟲。
2. 將成蟲放入自製的嗅覺反應測試器中央（示意如下圖），觀察其對食物（E.coli OP50）及天敵（蠕）的反應。



(三) 結果分析

90 秒	對照組	WiMAX 6hr	WiMAX 8hr	WiMAX 10hr	WiMAX 12hr
E.coli OP50 菌液	94 隻	95 隻	77 隻	54 隻	44 隻
蟻均質液	0 隻	1 隻	3 隻	7 隻	10 隻

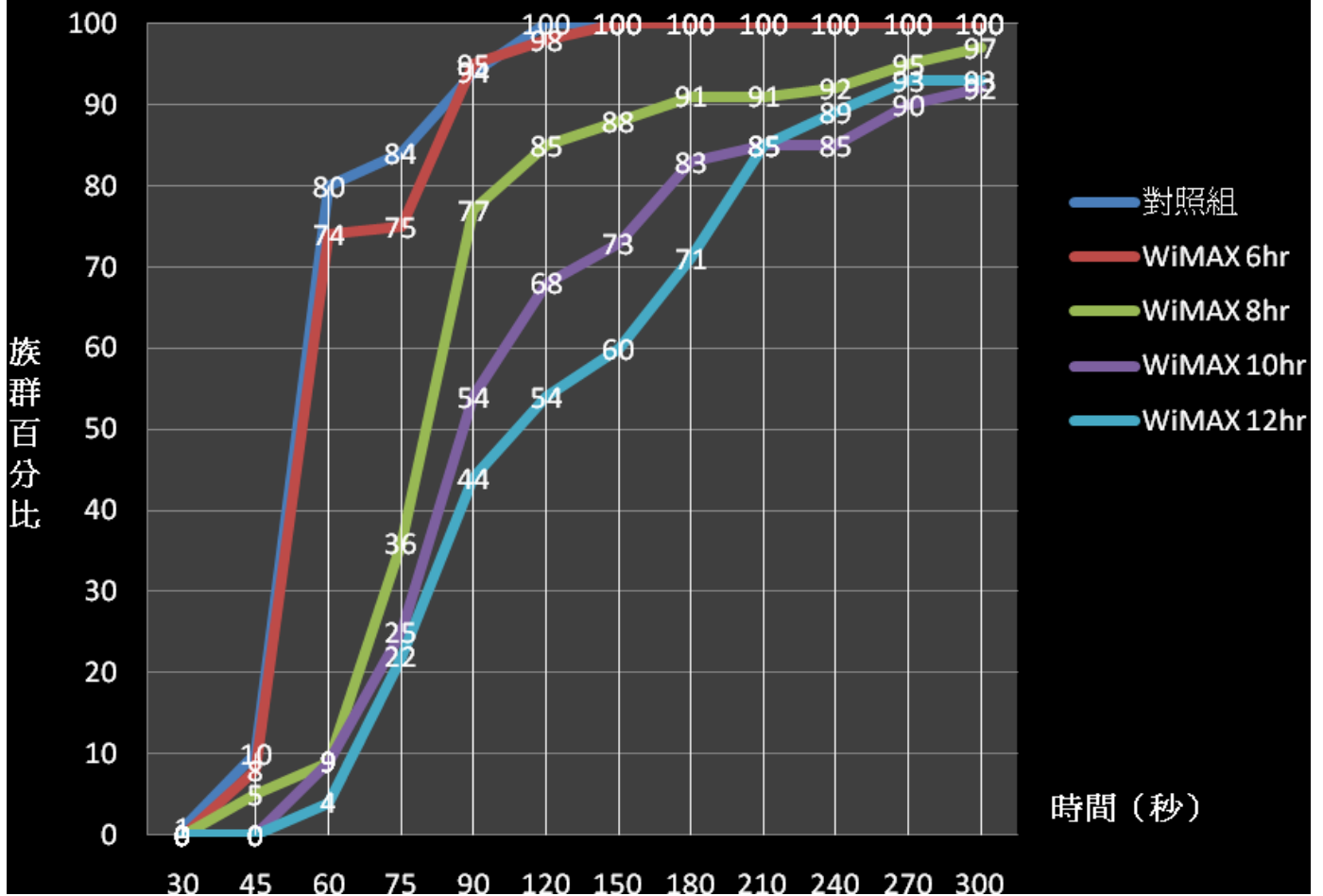


1. 對照組與 WiMAX 6hr 兩組，在第 90 秒時順利找到食物區的比例都已經達到約 95%，而 WiMAX 8~12hr 三組，隨著累積照射時間越長，依序僅有約 75%、55%、45%的達成率。
2. 對照組沒有一隻線蟲會到達天敵：蟻的均質溶液區，而實驗組隨著照射時間越長，出現在此區的線蟲有增加的趨勢，在照射 12 小時後，有 10%的線蟲會分佈在蟻的均質溶液區。
3. 實驗組隨著照射時間越長，在第 90 秒時進行觀察，會發現有很多線蟲的活動力下降，對食物沒有什麼反應。

不同時間點，到達 E.coli OP50 菌液區的線蟲總數紀錄表

秒數	對照組	WiMAX 6hr	WiMAX 8hr	WiMAX 10hr	WiMAX 12hr
30	1	0	0	0	0
45	10	8	5	0	0
60	80	74	9	9	4
75	84	75	36	25	22
90	94	95	77	54	44
120	100	98	85	68	54
150	100	100	88	73	60
180	100	100	91	83	71
210	100	100	91	85	85
240	100	100	92	85	89
270	100	100	95	90	93
300	100	100	97	92	93

嗅覺行爲測驗所需時間關係圖



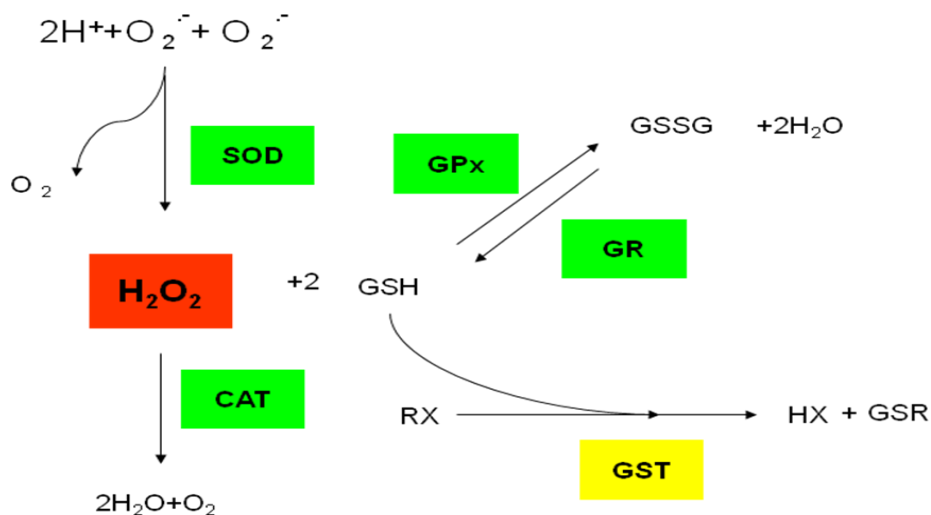
- 對照組與 WiMAX 6hr 兩組，在第 45~60 秒的區間（每 15 秒為一個區間）順利找到食物區的線蟲比例會大幅提升到 74% 以上。WiMAX 8hr 組則會延遲一些時間，在第 60~90 秒的 2 個區間順利找到食物區的線蟲比例會大幅提升到 75% 以上。對照組在第 120 秒已經有 100% 的達成率。WiMAX 6hr 組也有 98% 的達成率。
- WiMAX 10hr 與 WiMAX 12hr 兩組均需要第 60 秒後才開始有蟲子對食物有反應。在第 60~210 秒的 6 個區間，順利找到食物區的線蟲比例會慢慢漸增。在第 300 秒時仍然只有 90% 左右的達成率。

陸、討論

一、此實驗對氧化程度的測定，我們是用實驗室常用的方式：測定 SOD 活性。SOD 廣泛存在於好氧性或厭氧性的真核或原核生物中，它能將superoxide 催化成 O_2 或 H_2O_2 ，提供了生物體抵抗毒性氧所帶來的破壞與傷害，其反應式如下： $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ 。分光光譜儀下，即可以其微小透光差，測出SOD量的多寡，推論出其氧化的程度。普魯士藍測定法則是以赤血鹽 $[K_3Fe(CN)_6]$ 還原成黃血鹽 $[K_4Fe(CN)_6]$ ，黃血鹽再利用 Fe^{3+} 形成普魯士藍，藉由700nm處吸光值的變化來檢測還原力的大小，吸光值愈高表示還原力愈強。這兩種測定氧化的方法，以成本來說是普魯士藍較便宜，我們嘗試建立此一測定方法。

二、爲了測得 SOD、CAT 的活性，我們還需要足夠數量的均質液。在實驗中我們分成成蟲組與卵組，其中卵組的實驗，我們考量到其數量是否足夠，加上卵不易觀察，我們想過，讓卵長到 L1 再來取樣，但因生物的調節力甚快，如果實驗這樣進行會缺乏即時性，對實驗結果可能產生影響。對此問題，我們以增加卵的數量解決量不夠的問題。將線蟲改以較大型培養基(直徑 14.5cm)培養，並將兩盤蟲卵混合成同一組，以增加卵的數量。另外，吸取溶液上清液時，避免將 pipette 插入過於底部也能避免卵的損失。

三、抗氧化酵素—過氧化氫酶；CAT—的活性並不隨SOD改變，我們推測此時生物體內主要利用麩胱甘肽過氧化酵素（Glutathione peroxide; GPx）來代謝過氧化氫（參見下圖），所以CAT的活性才會隨時間而越來越高。



柒、結論

一、WiMAX 的頻率從 2~6 Ghz 不等，我國目前採用的頻率為 2.4GHz。雖較現有手機頻率（1800MHz）為高，但在電磁波頻譜中仍然屬於微波的範圍，不是游離性輻射，依現有的醫學知識來說，不對人體產生跟紫外光一樣的輻射性的傷害。

二、探討 WiMAX 2.4GHz 電磁波是否會影響線蟲生命週期與壽命。

（一）經過 WiMAX 電磁波照射 6 小時、8 小時以及 10 小時的三組，壽命均較對照組低，顯示出卵發育過程中接受照射會減少其壽命。而照射時間越長，影響越明顯。WiMAX 10hr 組壽命縮短了 4.48 天，相當於縮短了 30%的壽命。表示此頻率的電磁波會促使線蟲老化。

（二）實驗組線蟲其生命週期中，從卵發育至L4 晚期，各個階段所需的時間，均比對照組所需更多的時間。顯示卵發育過程中接受照射電磁波會減緩其發育速度。而照射時間越長，影響越明顯。從L1 發育到L4 最多延遲 8.25 小時，是延遲最多的一個發育階段。

（三）實驗組從 L4 晚發育至成蟲，所需的時間，均比對照組短，且照射時間越長，提前的效應越明顯。在完成生命週期所需的時間，實驗組較對照組需要更多的時間來完成發育，但是一旦發育成成蟲後，卻會提早老化，造成壽命均較對照組短的結果。

三、探討 WiMAX 2.4GHz 電磁波是否會對線蟲產生氧化壓力。

卵組

（一）實驗中發現，卵實驗組的 SOD 活性都比對照組低，其中又以 WiMAX 10hr 為最低，足以顯示 WiMAX 2.4GHz 的電磁波確實會降低體內抗氧化酵素—超氧歧化酶；SOD—的活性，對正在發育中的卵產生氧化壓力。

（二）WiMAX 8 hr 的 SOD 雖然也低於對照組，但是較 WiMAX6hr、WiMAX 10hr 兩組為高，這可能是一種誘發回饋的時間點。

（三）WiMAX 6hr、WiMAX 8 hr、WiMAX 10hr三組，其體內抗氧化酵素CAT的活性有增加的趨勢，而對照組的CAT酵素活性卻是下降，表示兩者所用到的解毒系統可能不相同。我們推測此時生物體內主要是利用GPx來代謝過氧化氫，所以CAT的活性才會隨時間而越來越高。

成蟲組

實驗中發現：WiMAX 6hr、WiMAX 8 hr、WiMAX 10hr 三組，其體內抗氧化酵素 SOD 與 CAT 的活性均比對照組低，其中又以 WiMAX 10hr 為最低，可以看出氧化壓力具有傷害累積的效果，進而造成生物體容易產生老化。足以顯示此電磁波的確足以對生物體構成顯著的氧化壓力。

四、探討 WiMAX 2.4GHz 電磁波是否會促使線蟲發育至抗逆境狀態(Dauer)。

實驗中發現：WiMAX20hr 與 WiMAX 22 hr 二組，開始有 dauer 蟲出現，而且經過分離培養，其發育成爲成蟲後均爲雄性。顯示長時間照射電磁波對線蟲來說確實爲一種生存壓力。

五、探討發育早期受到的氧化壓力是否會促使線蟲產生更多雄性子代。

實驗中發現：隨著照射 Wimax 電磁波的時間累積，會使線蟲產生更多雄性子代。WiMAX 22 h 組，雄蟲比例比對照組增加了 5 倍。我們可以得知：WiMAX 2.4GHz 的電磁波確實會影響由內分泌所控制的生理本能。我們推測：氧化壓力造成族群生存壓力，故產生較多雌性以擴大族群數量。

六、經過不同時間長短，電磁波照射後，即實驗組，無論是對喜好味道的嗅覺，或是對厭惡味道的嗅覺，均有抑制的效果。而上述這些本能行爲都是屬於神經系統控制的行爲，我們因此推論：WiMAX 2.4GHz 的電磁波可能會延遲嗅覺恢復正常，或抑制嗅覺神經訊息傳導速度。造成其被捕食的機率增加以及尋找到正確食物的機率減低。

捌、參考資料及其他

- 一. Ran Zhao, Studying gene expression profile of rat neuron exposed to 1800MHz radiofrequency electromagnetic fields with cDNA microassay, Toxicology 235 (2007), 167-175.
- 二. 中華民國第四十七屆科展高中組生物科作品，線蟲老化之研究。
- 三. 馬志欽，電磁與生命，2000 年鴻霖國際事業。
- 四. 馬志欽，生物電磁學，2000 年，鴻霖國際事業。
- 五. 樊啓昶與白書農，發育生物學原理，2003，藝軒出版社。
- 六. Muller W A，發育生物學，1999，九州圖書。
- 七. 科學人 (2007)，自由基與老化，60：43~56
- 八. 科學人 (2006)，啟動長壽基因，50：24~33

【評語】 030316

- 1.此研究探討 WiMAX 電磁波對線蟲老化的影響，實驗設計簡單，但由多項指標來觀察線蟲在電磁波曝下的反應，如抗氧化活性降低、壽命縮短、嗅覺恢復延遲等。因此認為電磁波會引起線蟲老化。
- 2.此研究之結果顯示電磁波對線蟲可能造成傷害，而影響其生存，但老化指標的定義應可更明確。