



INNOVATION

# 腸道細菌對健康小鼠的影響

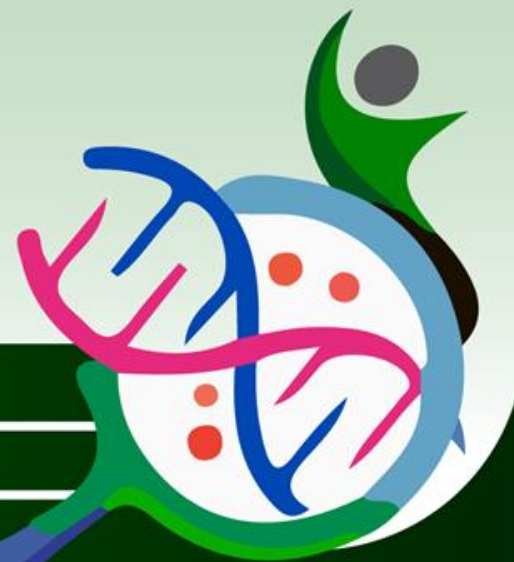
指導教授：謝清河教授

指導老師：劉玉山老師

指導學長：陳泓志博士

227 20 彭篆逸

生物組 BIOLOGY





# 研究動機

圖檔來源：Tony W.H. Tang, Hung-Chih Chen et.al (2019). Loss of Gut Microbiota Alters Immune System Composition and Cripples Postinfarction Cardiac Repair. Circulation,139(5), 647-659。



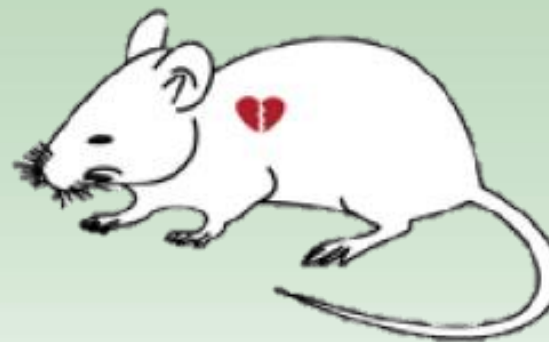
誘導心肌梗塞



正常生存率



誘導心肌梗塞



死亡率提高

心臟破裂可能是導致死亡率提高的因素之一！

INNOVATION



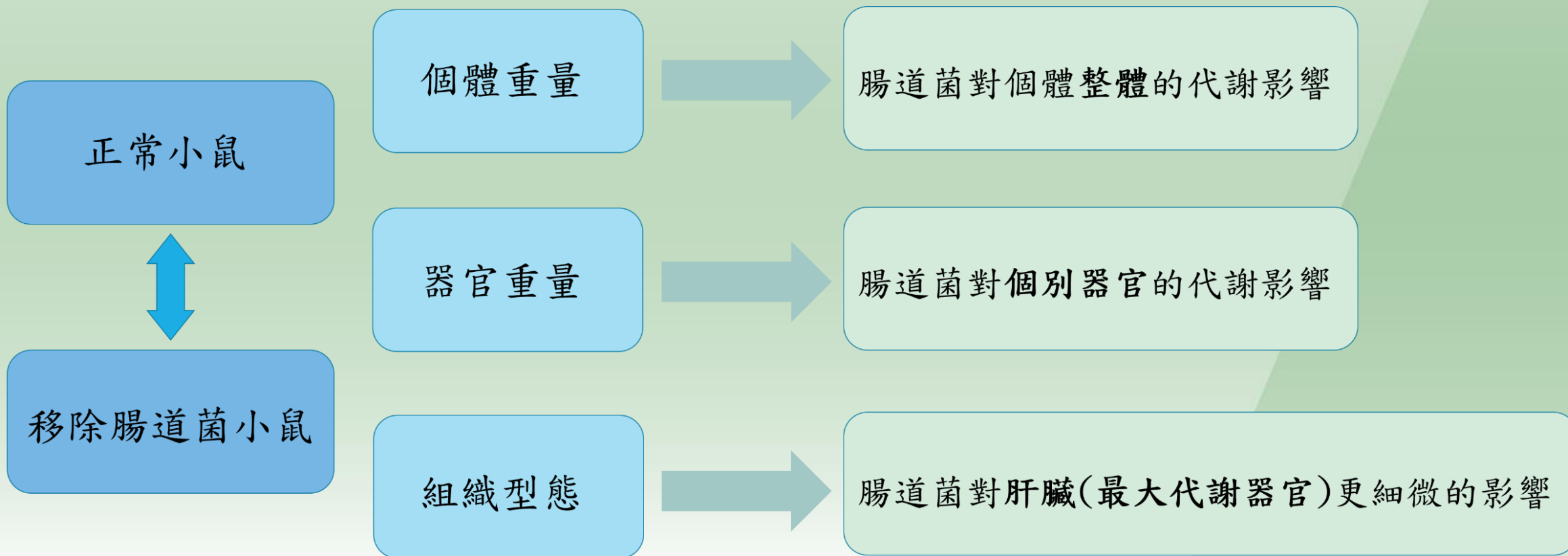
# 研究目的

---

- 本研究嘗試更深入研究腸道菌與個體的生理關係，以求解腸道菌對身體代謝的影響。



# 研究目的



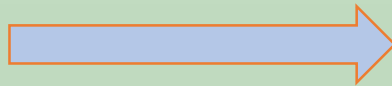


# 實驗設計



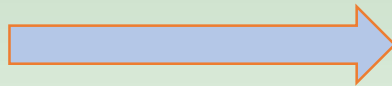
9周，公鼠  
(C57BL/6J)品系

餵食抗生素



實驗組

正常飼養



對照組



## ABX配置

---

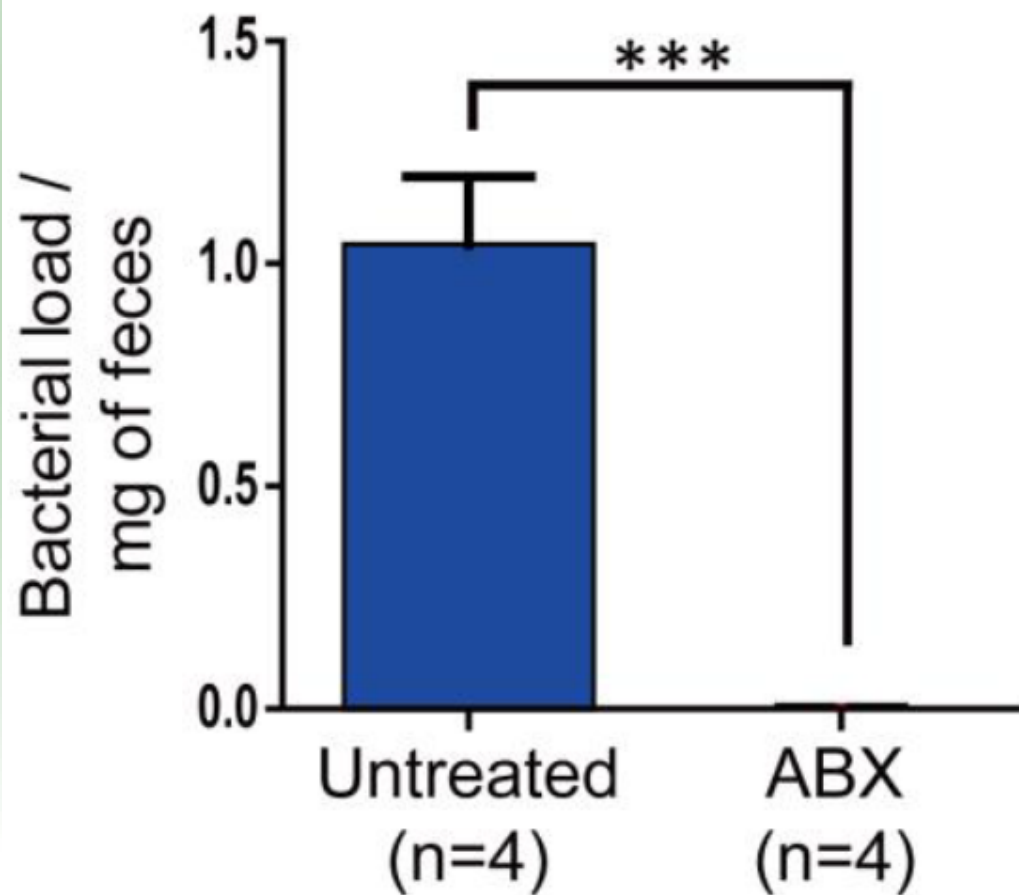
### • ABX藥劑成分

• Ampicillin 安苳青黴素	0.25	(g/L)
• Metronidazole 甲硝唑	0.25	(g/L)
• Neomycin 新黴素	0.25	(g/L)
• Vancomycin 萬古黴素	0.125	(g/L)





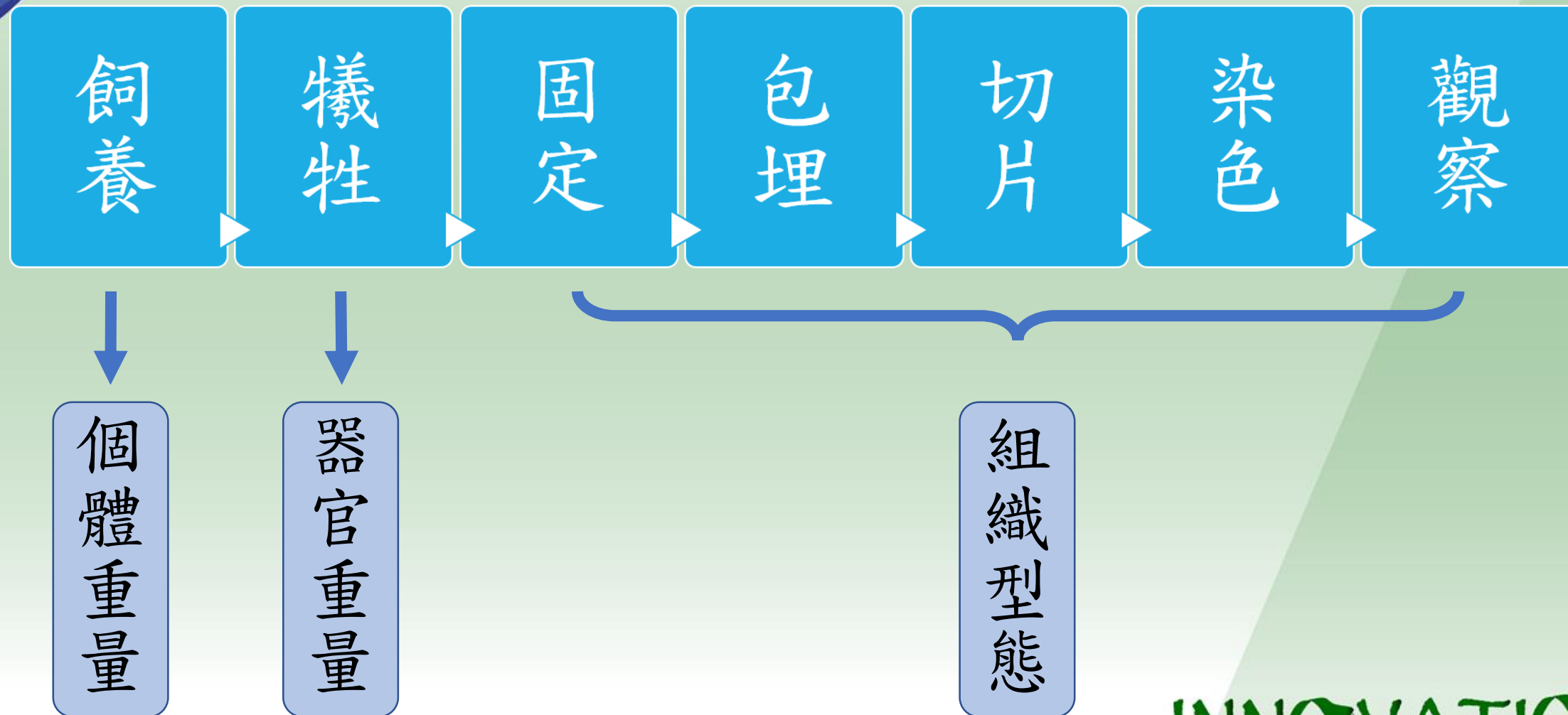
# ABX藥劑效用



圖檔來源：Tony W.H. Tang, Hung-Chih Chen et.al (2019). Loss of Gut Microbiota Alters Immune System Composition and Cripples Postinfarction Cardiac Repair. *Circulation*,139(5), 647-659。



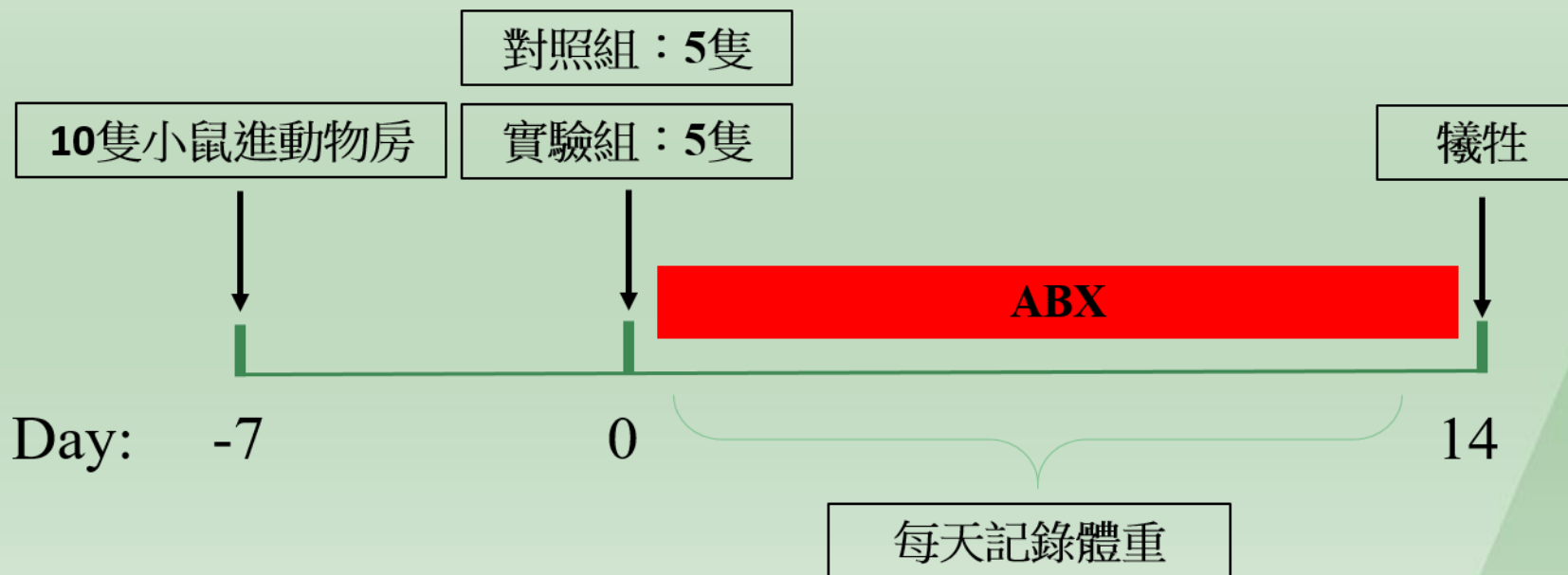
# 實驗設計







# 實驗設計-飼養



- 犧牲時取小鼠之心、肝、脾、肺、腎、大腦、一段小腸及脛骨。



# 實驗設計-犧牲

- 犧牲方式：安樂死
- 注射方式：腹腔注射( IP injection )
- 麻藥：舒泰( Zoletil )

圖檔來源：

<https://animalcare.ubc.ca/sites/default/files/documents/TECH%2010%20IP%20Injections%20in%20the%20Mouse%20and%20Rat.pdf>



INNOVATION



# 實驗設計

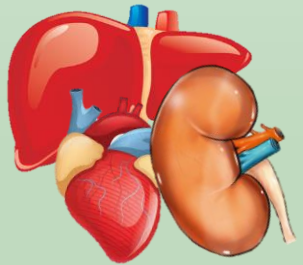
---



- 包埋及切片：冷凍切片
- 染色：H&E染色



# 實驗設計-固定



4% 多聚甲醛溶液  
搖晃16小時

15% 糖水溶液  
搖晃1~2天

30% 糖水溶液  
搖晃1~2天

目的:

- 維持組織狀態，  
利於後續染色  
觀察

目的:

- 保持組織含水量，  
利於維持軟組織  
細部結構



# 實驗設計-包埋、切片

→ 將器官裝入包埋盒中，  
並以冷凍包埋劑填充至器官完全被覆蓋

目的：

- 保存樣本

→ 放入-80°C冰箱中，  
使冷凍包埋劑凝固

→ 以冷凍切片  
切出10微米寬的樣本



# 實驗設計-H&E染色



目的:

- 染細胞核(深藍色)



# 實驗設計-染色

→ 將玻片浸入Eosin  
溶液1分鐘

→ 以等張溶液清洗掉  
多餘的染劑

→ 脫水

→ 封片

目的:

- 染細胞質(粉紅色)

目的:

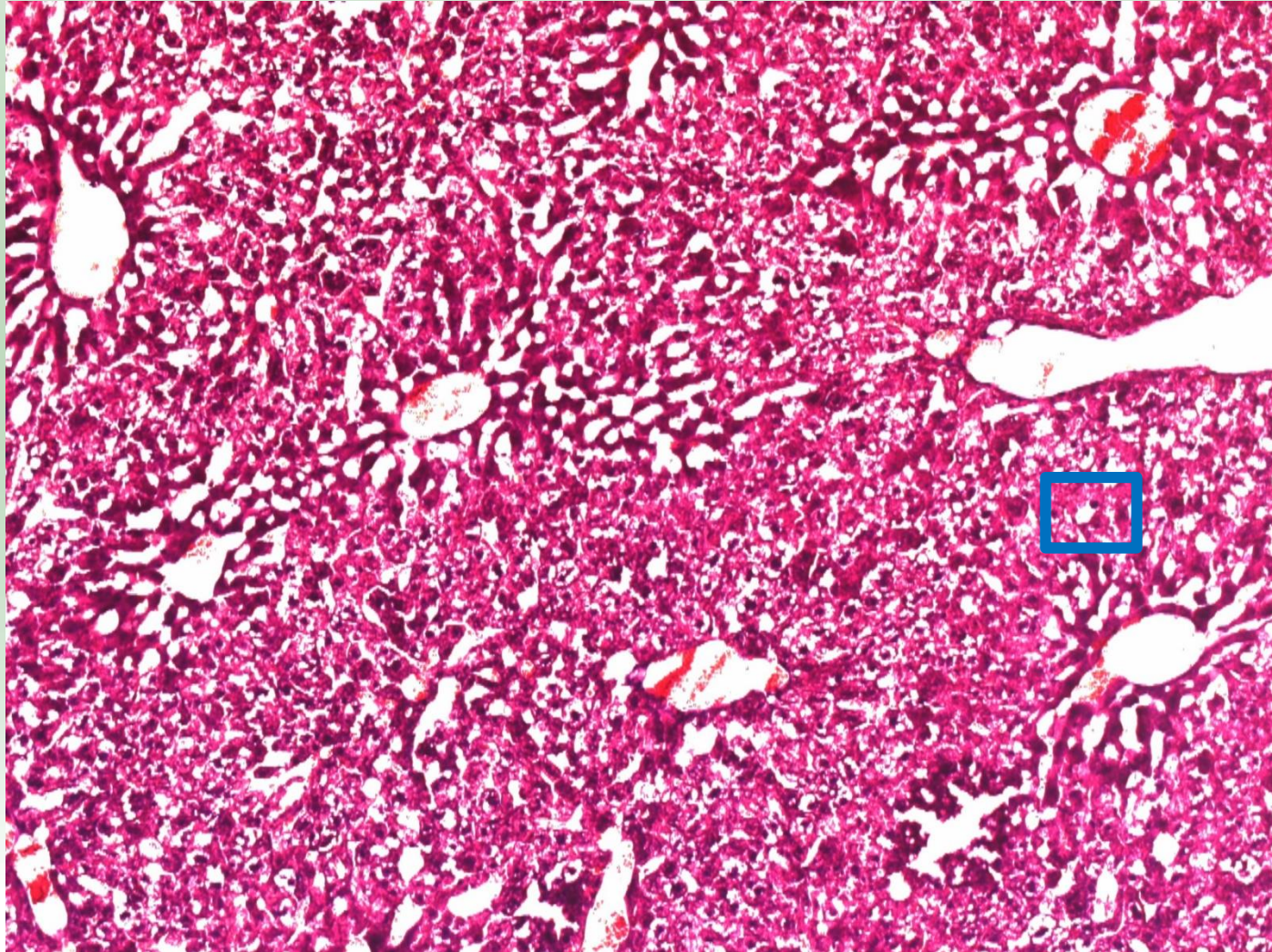
- 保存組織切片





# H&E 染色

---





# H&E 染色



- 紅色區域：Eosin
- 染色目標：細胞質

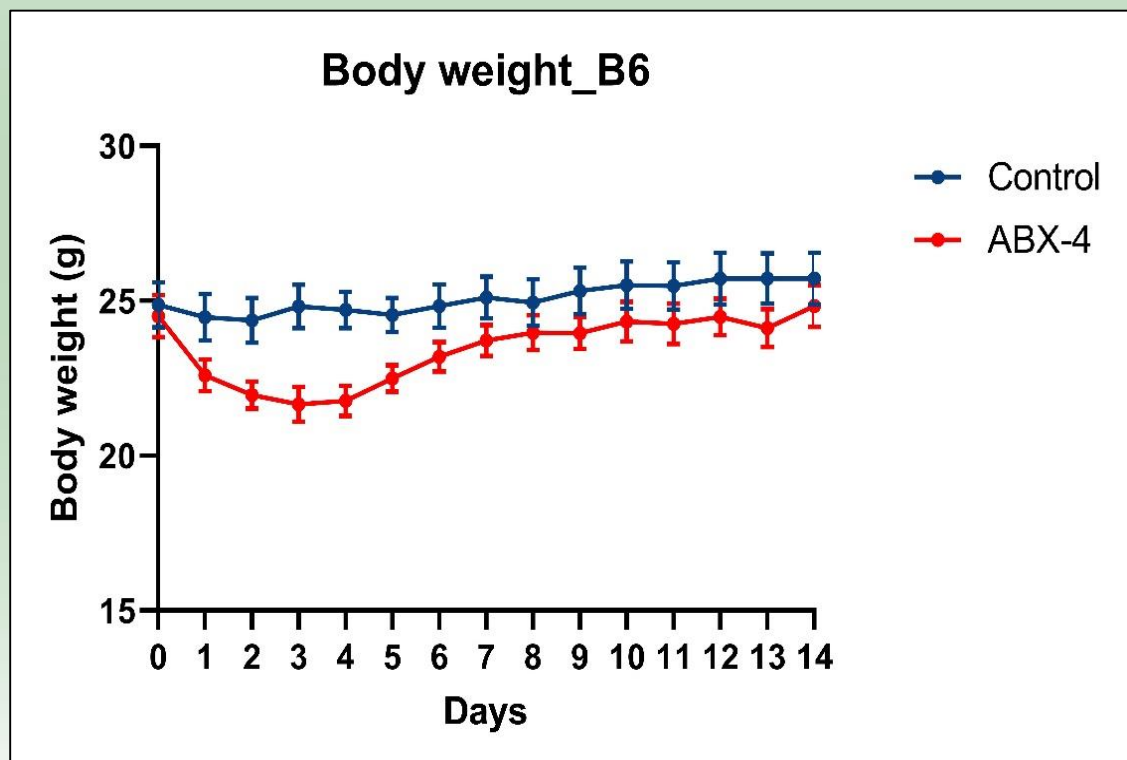
- 深色區域：Hematoxylin
- 染色目標：細胞核

- 細胞間隙





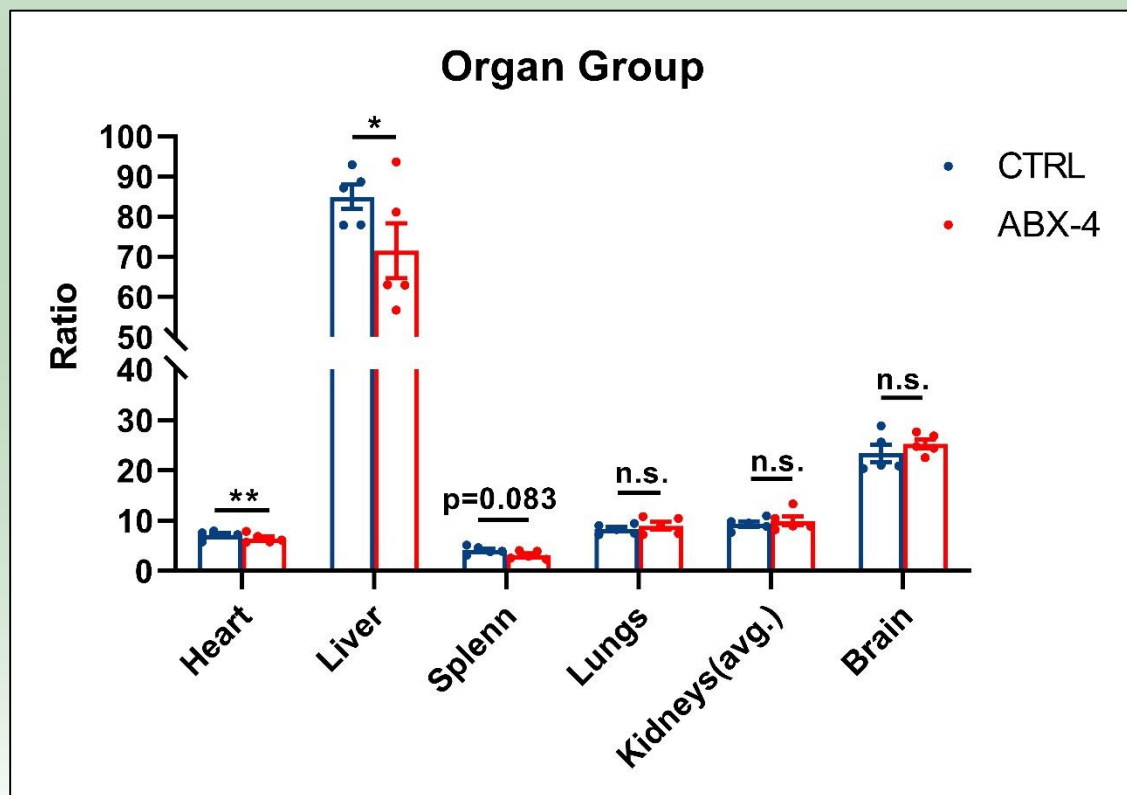
## 實驗結果-個體重量



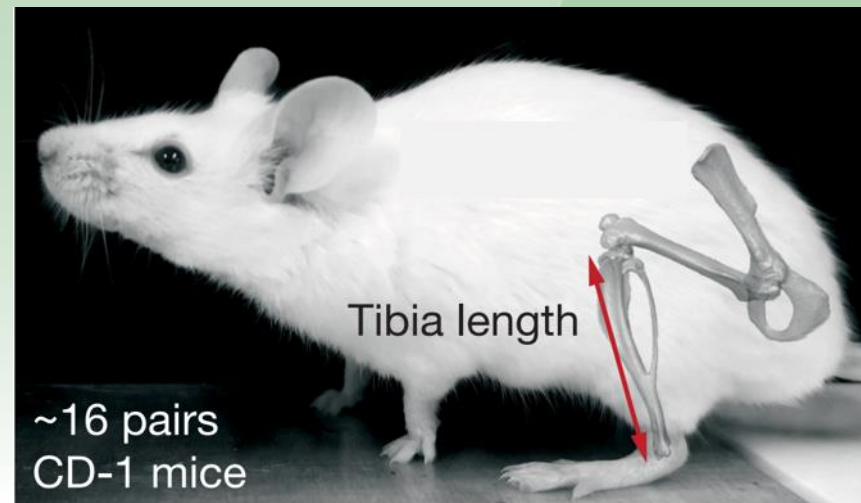
- 實驗組的體重在第三天前維持下降。
- 實驗組的體重在第七天回復穩定。



## 實驗結果-器官重量



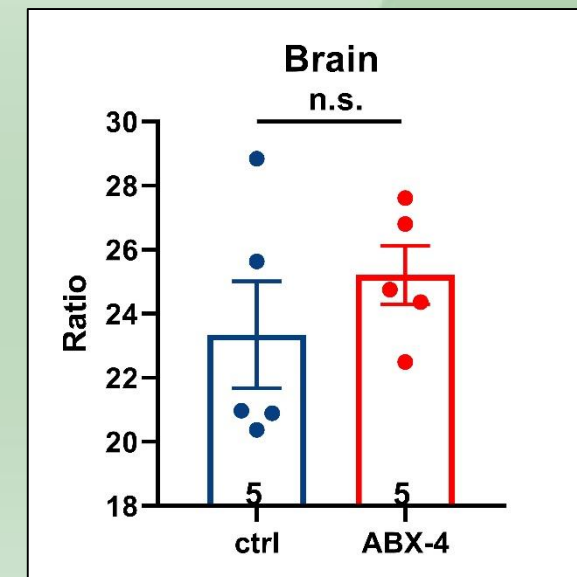
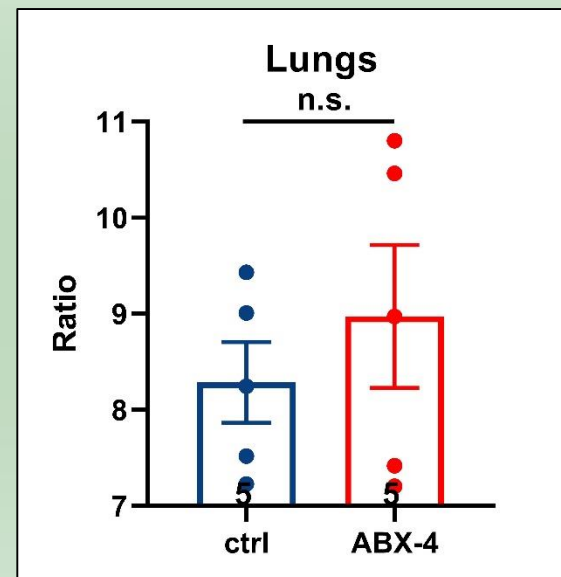
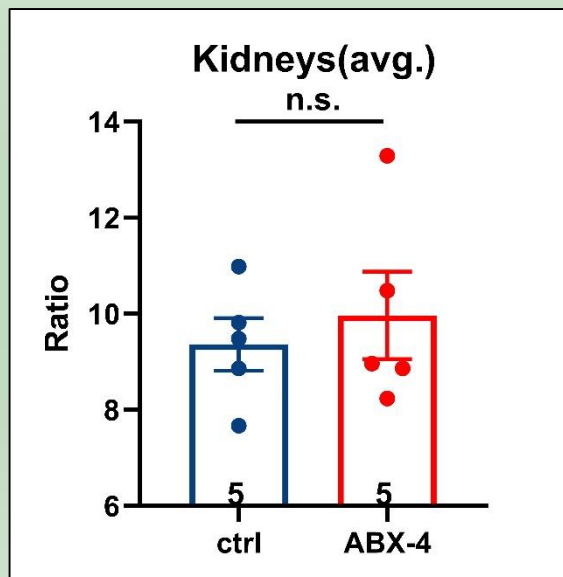
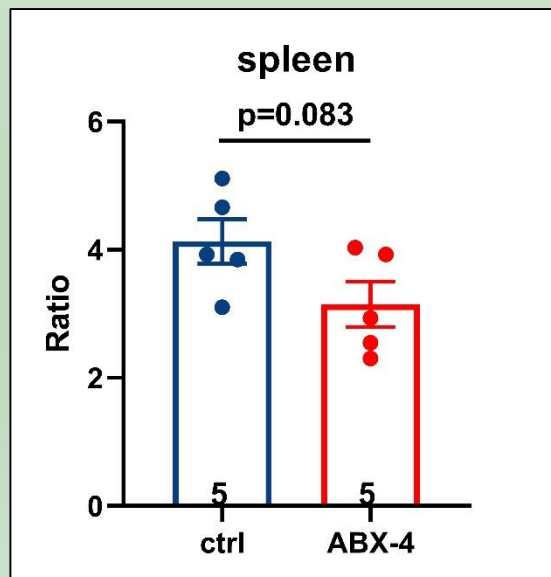
- 縱軸為小鼠器官重量對脛骨長度的比例。
- 目前僅心臟和肝臟有做出顯著的差異。
- 確認去除腸道菌對各器官的影響不同。



INNOVATION



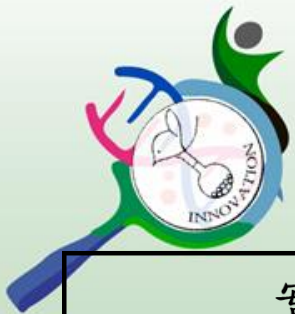
## 實驗結果-器官重量



改善方式：

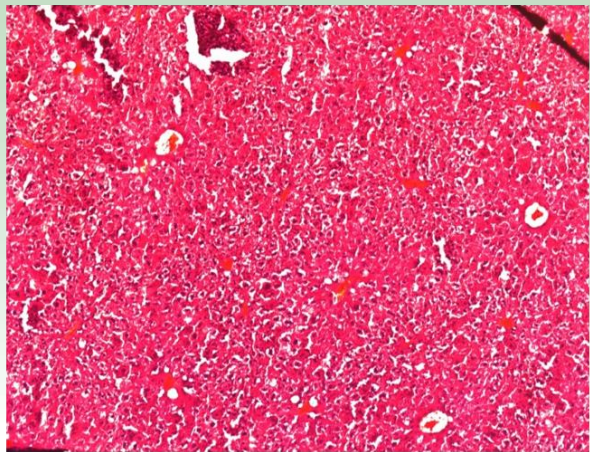
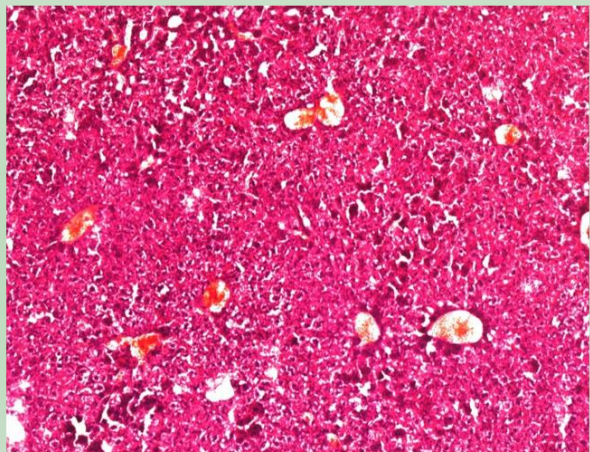
- 增加實驗隻數，確認腸道菌與該器官的關係。



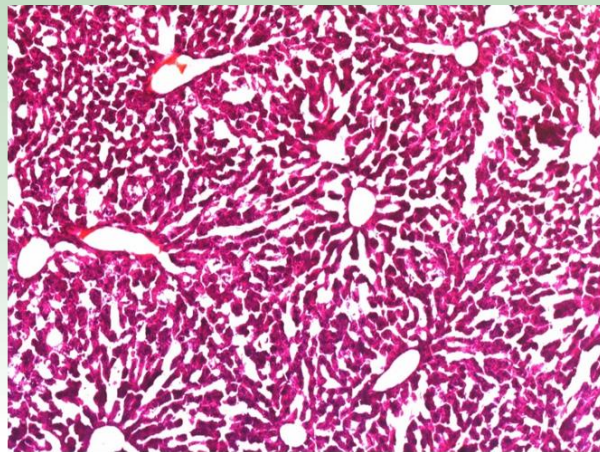
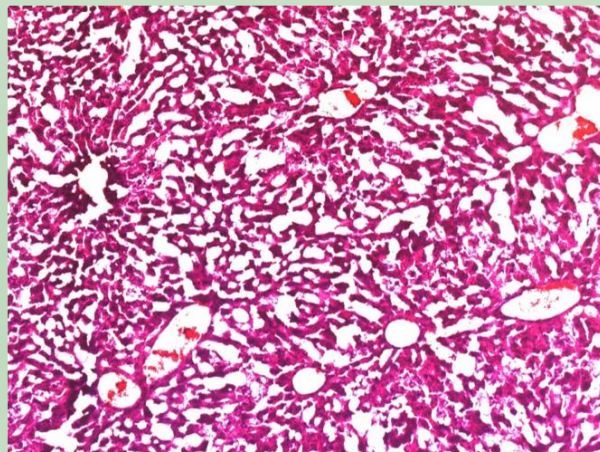


## 實驗結果-肝臟組織型態

實驗組



對照組



- 實驗組中，有三組排列緊密，一組疏密各半。
- 對照組中，有兩組排列疏鬆，一組緊密，一組疏密各半。

放大倍率:100x



## 結論

---

- 腸道菌對各器官重量有不同的影響。
- 腸道菌的有無對心臟及肝臟的重量有顯著的差異。
- 肝臟切片中對照組的排列較為疏鬆，而實驗組的排列較為緊密。





## 未來展望

---

1. 將肝臟樣本以螢光染色處理，確認細胞間填充的物質。
2. 對心臟樣本進行組織切片及染色，探討為何心臟為器官重量變化最顯著的一個。
3. 對其他器官樣本進行組織切片及染色，探討腸道菌對各器官的影響。



# 特別感謝

---

謝清河教授

劉玉山老師

陳泓志博士

謝教授實驗室所有的學長姐

和台下所有的觀眾