

# 第一章 緒論



## 1.1 前言：


大自然界中存在許多不同種類的生物可以藉由感應地球磁場來進行導航與定位。這類生物的層次分布十分寬廣，從單細胞生物的細菌到高等的哺乳類動物皆有。

如同蜜蜂 (honeybees) [Gould, 1980] 一般，科學家發現鴿子 (home pigeons) [Walcott *et al.*, 1979]、鮪魚 (tunas) [Walker *et al.*, 1984]、鮭魚 (salmons) [Mann *et al.*, 1988; Sakaki and Motomiya, 1990]、螞蟻 (ants) [Camlitepe and Stradling, 1995]、鱒魚 (rainbow trouts) [Walker *et al.*, 1997]、蠃螈 (newts) [Deutschlander *et al.*, 1999]、海龜 (sea turtles) [Lohmann *et al.*, 2001] 和龍蝦 (spiny lobsters) [Boles and Lohmann, 2003] 等生物都具有感應地球磁場的能力，因為這些生物的生活史當中經常需要進行遠距離的遷移，不論其目的是為了覓食或繁衍後代。

另一方面，科學家在石鰐 (chitons) [Lowenstam, 1962 1967; Towe and Lowenstam, 1967; Kirschvink and Lowenstam, 1979; Li *et al.*, 1989]、笠貝 (limpets) [Mann *et al.*, 1986; St Pierre *et al.*, 1986]、磁趨細菌 (magnetotactic bacteria) [Blakemore,

1975；Frankel *et al.*, 1979；Towe and Moench, 1981；Frankel and Blakemore, 1984〕、蜜蜂〔Kuterbach *et al.*, 1982〕、鴿子〔Walcott *et al.*, 1979〕、磁趨藻類 (magnetotactic algae) 〔Torres de Araujo *et al.*, 1985〕與鮭魚〔Mann *et al.*, 1988；Walker *et al.*, 1988；Sakaki *et al.*, 1990〕等生物中發現含鐵的礦物沉積，於是開啟了研究生物含鐵礦物與感應地球磁場之間的關聯性。

## 1.2 最佳的模式生物：蜜蜂



「蜜蜂」是研究生物與感應地球磁場關係的最佳模式生物之一，原因是因為蜜蜂是生物界中沉積鐵最旺盛的生物之一，也是少數被證實可以在細胞內沉積鐵礦物的真核生物〔Kuterbach *et al.*, 1982〕。另外，蜜蜂在生物行為上也是被研究最清楚的生物之一，透過飛行舞蹈的方式，首先發現蜜源的蜜蜂便可以將蜜源位置告訴巢內的其他成員。此外，蜜蜂本身是良好的研究素材，透過專業養蜂人的細心照料，一個單位的蜂群往往擁有近十萬隻蜜蜂，此等數量對於研究上極為方便。再者，蜂群本身能夠自給自足，不需要曠日費時的養護與照料，對於研究者本身而言可以減少許多負擔。

### 1.3 生物礦化

生物礦化 (Biomineralization) 指的是自然界中的無機離子透過生物體內的生物化學反應轉化成礦物的過程〔Mann *et al.*, 1988〕。雖然生物礦化是一種發生在有生命的個體的機制，不過有許多科學家將生物礦化的意涵進一步擴大，將某些特定的化石紀錄中的無機礦物沉積視為是古生物進行生物礦化的產物。於是早在寒武紀大爆炸時期，約五億兩千五百萬年前的地質紀錄中，已經顯示出主要的動物門已經有生物礦化的現象了〔Kirschvink and Hagadorn, 2000〕。

生物礦化的機制往往只會發生在特定的細胞與組織中，並且受到生物體中特殊的基因所調控著。其生物礦化的結果往往會形成結晶 (crystalline) 與非結晶 (amorphous) 型的礦物顆粒，其中一些物種還會更進一步產生精細的圖案，以及對稱性的結構〔Mann *et al.*, 1988〕。譬如，原生生物界中數量最龐大的矽藻，就以擁有各式豐富與絢麗變化的矽殼圖樣聞名，這些矽殼上的特殊構造，主要是二氧化矽沉積，造成的原因正是因為生物礦化的機制。矽殼沉積發生於細胞分裂之後，並在一個稱為矽沉積囊胞的特殊胞器內進行。這個短暫出


現的囊胞緊貼著新裸露出來的細胞膜，隨著矽殼沉積，囊胞會逐漸擴大、增厚。最後，矽沉積囊胞消失，嶄新的矽殼被排出細胞外覆蓋住新細胞膜。之後，科學家更進一步發現許多殼蛋白參與這些現象的進行，如德國的科學家 N. Kroeger, C. Bergsdorf 和 M. Sumper 從 1994 年至今已陸陸續續由矽殼中分離出一些與矽沉積有關的蛋白質〔Kroeger *et al.* 1997〕。

生物礦化機制可分為兩類型：細胞內 (intracellular) 〔Blakemore, 1975; Kuterbach *et al.*, 1982; Torres De Araujo *et al.*, 1985〕與細胞外 (extracellular) 〔Lowenstam, 1962〕，細胞內的生物礦化例子有磁趨細菌與蜜蜂，細胞外的例子則包括現生的各式貝類生物等。生物礦化的機制通常不需要在特殊的環境下進行，只需要配合物種本身生活條件下的溫度、壓力與酸鹼值即可。這些進行生物礦化的物種歸於五大界 (kingdoms) 生物中，分別是原核生物界 (Monera) (例如：bacteria, algae)、原生生物界 (Protista) (例如：slime nets, sea-weeds)、真菌界 (Fungi) (例如：molds, mushrooms)、植物界 (Plantae) 和動物界 (Animalia) 〔Lowenstam, 1981; Mann *et al.*, 1988〕。

有許多種金屬離子因為生物礦化而被沉積於生物體內，最主要的有鹼性二價陽離子 (Mg, Ca, Sr, Ba)，過度金屬 (Fe) 和半導體金

屬 (Si)。這些陽離子會與陰離子結合，以形成固體化合物的形式存在，譬如：碳酸鹽類 (carbonate)、草酸鹽類 (oxalate)、硫酸鹽類 (sulphate)、磷酸鹽類 (phosphate) 與一些氫氧化物或氧化物等 [Lowenstam, 1981; Mann *et al.*, 1988]。這些生物礦化形成的固體化合物有許多不同的功能，譬如形成骨頭與牙齒，也可以形成細胞內的分子，如含鐵離子的 ferritin 等。所以生物礦化對生物體而言是不可或缺的機制。

#### 1.4 鐵之生物礦化 (Iron Biomineralization)



鐵離子在生物體中主要的功能之一就是運輸氧分子，因為在大多數動物的血紅蛋白 (hemoglobin) 中都含有鐵原子，透過氧化還原作用使得位於原血紅素 (heme) 上的鐵原子可以與氧分子結合，之後透過血液的流動，使得氧氣可以由富含氧的地方，運送到身體其他需氧的部分。此外，在大多數能進行光合作用的植物中，鐵原子存在於細胞色素 (cytochrome) 內，此一色素在光合作用的光反應 (light reaction) 裡扮演著關鍵角色，負責將電子 ( $e^-$ ) 由光系統 2 (photosystem 2) 傳至光系統 1 (photosystem 1)，進而產生出氫離子 ( $H^+$ ) 來製造 ATP。含鐵之生物礦化的主要產物有以下幾種：磁

鐵礦 (magnetite,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )、水合鐵礦 (ferrihydrite,  $5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ )、針鐵礦 (gothite,  $\alpha \cdot \text{FeOOH}$ )、纖鐵礦 (lepidocrocite,  $\gamma \cdot \text{FeOOH}$ ) 與一些非晶型的氧化鐵 [Mann, 1987]。

以下列舉出一些含氧的鐵沉積礦物，包括存在於哪些物種以及進行何種礦化過程與發現於生物體中的哪些位置。此表格內容取自於 Lowenstam, H. A. 和 Kirschvink, J. L. [1985]。

Minerals	Occurrence	Mineralization process	Mineral location (typical examples)
Magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )	Bacteria	Matrix mediated	Intracellular magnetosomes
	Molluscs	Matrix mediated	Extracellular in chiton teeth
	Arthropods	Unknown	Honeybee abdomend
	Chordates	Matrix mediated	Tuna dermethmoid bone, pigen head
Ferrihydrite ( $5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ )	Bacteria	Matrix mediated	Bacterioferritin micelle
	Fungi	Matrix mediated	Ferritin micelle
	Plantae	Matrix mediated	Phytoferritin micelle
	Animalia	Matrix mediated	Ferritin micelle
Lepidocrocite ( $\gamma \cdot \text{FeOOH}$ )	Porifera	Induced	Sponge granules
	Mollusca	Matrix mediated	Chiton teeth
Goethite ( $\alpha \cdot \text{FeOOH}$ )	Mollusca	Matrix mediated	Limpet teeth
Amorphous ferric oxides	Bacteria	Unknown	Variable or unknown
	Protozoa	Unknown	Foraminiferal test cement
	Annelida	Matrix mediated	Polychaete tube cement
	Mollusca	Unknown	Gastropod gizzard plates

## 1.5 磁鐵之生物礦化 (Magnetite Biomineralization)

磁鐵之生物礦化是生物中最古老的生物礦化機制之一，大多數的

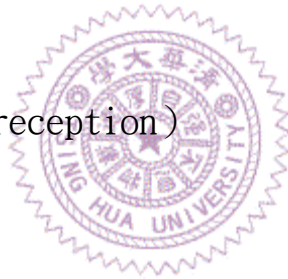


磁鐵沉積靠的是 Matrix-mediated 的過程。這些現象被視為是此類生物為了適應後天環境所演化出來的後天能力〔Kirschvink and Hagadorn, 2000〕。Kirschvink 與 Hagadorn 推論這類以磁鐵礦為媒介來進行磁場感應以及生物礦化的生物，其起源可以回溯到六億至九億年前，也就是一些脊索動物 (chordata)、軟體動物 (mollusca) 或節肢動物 (arthropoda) 的共同祖先。

科學家 Heinz A. Lowenstam 最早於 Chitons 這種軟體動物的齒舌 (radula teeth) 中發現透過生物礦化形成的磁鐵礦物。在這項發現之前，磁鐵被認為只能由受過高溫高壓的火成岩或變質岩而來。然而，在此類軟體動物卻藉由形成磁鐵礦來使得齒舌變的更加堅硬，以方便覓食附著於堅硬岩石表面僅幾毫米高度的藻類〔Kirschvink and Hagadorn, 2000〕。「磁趨細菌」，是第二個被發現含有生物磁鐵礦的生物，也是近些年來被研究最為透徹能進行磁鐵礦生物礦化的生物之一（見【圖1.1】）。磁趨細菌是一群特殊的葛蘭氏陰性菌之原核生物。透過觀察，發現磁趨細菌體內有許多經由生物礦化形成的次微米級 (sub-micron) 的磁鐵礦結晶，於是科學家便推論這些於細胞體內沉積的生物磁鐵礦可以與地球磁場發生作用，進而提供磁趨細菌關於地磁強度與方向的相關訊息〔Kopp, 2001〕。這些磁鐵結晶會形成於磁趨細菌內一些由磷脂質膜形成的空泡中，稱之為



「magnetosomes」(見【圖1.2】)〔Gorby *et al.*, 1988〕。這些 magnetosomes 的直徑介於 30 ~ 100 奈米，形成了所謂單一磁疇 (single domain) 的磁性奈米粒子 (nanoparticles) 〔Schuler and Frankel, 1999; Safarik and Safarikova, 2002〕。細菌內的 magnetosomes 成串排列，如同形成一個指北針般，並且提供一個轉動力矩，使得磁趨細菌本身會被動地隨著成串 magnetosomes 感應到的磁場方向轉動。於是，這些細菌在北半球時會游向地磁北極；反之，在南半球時會游向地磁南極〔Kirschvink, 1980〕。



## 1.6 磁場感應 (Magnetoreception)

自古以來，生物都具有感應外界環境信息的能力。動物在進行遷移或者是覓食的過程中，往往可以透過日光、星星、風向，或者是地球磁場等環境信息來辨別自身位置以及將往的方向〔Kirschvink *et al.*, 1985〕。於是，不同物種之間的差異又可以由使用何種環境信息來加以區別。

磁場感應，指的是某種動物能利用偵測地球磁場這項環境信息來謀生的特殊機制。科學家發現許多不同的生物都具有磁場感應的能力，譬如蜜蜂、鴿子、鮭魚、海龜及螞蟻等〔Gould, 1980; Walcott

*et al.*, 1979; Walker *et al.*, 1984; Mann *et al.*, 1988; Sakaki and Motomiya, 1990; Camlitepe and Stradling, 1995; Walker *et al.*, 1997; Deutschlander *et al.*, 1999; Lohmann *et al.*, 2001; Boles and Lohmann, 2003〕。然而對於這種機制如何作用以及這種機制的起源，仍然有許多不清楚的地方〔Wiltschko and Wiltschko, 1995〕，於是各種假說與模型紛紛被提出來加以討論與驗證。大多數的研究認為，那些經由生物礦化機制產生的生物磁鐵礦結晶，即所謂的「奈米粒子」(nano-particles)，被視為是一種地球磁場資訊的轉換器(transducers)，可以將感應到的地球磁場訊息轉換成生物體行動的指令〔EI-Jaick *et al.*, 2001〕。就好比是人體的神經系統一般。雖然Lohmann 與 Johnsen宣稱在動物中還沒有任何磁場感應受體(magnetoreceptor)被純化出來〔Lohmann and Johnsen, 2000〕，但是有趣的是，近年來已經有人把鱒魚(rainbow trout)體內的磁鐵礦結晶定義是鱒魚的磁場感應受體了〔Diebel *et al.*, 2000〕。

而對蜜蜂而言，早期研究認為蜜蜂藉由跳舞來傳遞蜜源方位給蜂巢中的其他同伴。蜜蜂能跳兩種舞，其中一種舞蹈的動線呈 8 字型，在 8 字型的中間處，跳舞的蜜蜂循直線一面走一面擺動屁股，於是科學家稱這種舞蹈為「搖擺舞」(waggle dance)。蜜蜂跳這種舞有什

麼作用呢？在長期的觀察之後發現，蜜蜂搖擺走動時的這條線與地心引力這條垂直線所形成的夾角，恰好等於蜜源到蜂巢這條直線和太陽到蜂巢這條線所形成的夾角〔von Frisch, 1973〕。不過後來其他的研究也發現，磁場同樣能夠影響蜜蜂跳搖擺舞的角度〔Lindauer and Martin, 1968； Martin and Lindauer, 1977； De Jong, 1982〕。除此之外，蜜蜂還可以被訓練來分辨各種強度的磁場。經過實驗研究發現，蜜蜂竟然可以偵測到最小強度僅 26 nT（nano-Tesla）的磁場改變〔Walker and Bitterman, 1985； 1989a； 1989b； 1989c〕，這個數字遠小於一般地球磁場的強度（45,000 nT）。再者，科學家們在一些精心設計的迷宮實驗中，也證實了蜜蜂具有感應地球磁場的能力〔Kirschvink and Kirschvink, 1991〕。

## 1.7 蜜蜂的含鐵顆粒（Iron Granules in Honeybees）

蜜蜂是少數幾種能夠在細胞內（intracellular）沉積鐵顆粒（iron granules）的生物。先前的研究顯示，鐵之生物礦化發生在蜜蜂體內的一種特殊細胞——營養細胞（trophocytes）中，這種細胞發現於蜜蜂的腹部（abdomen）表皮下，環繞著蜜蜂腹部分布，但是絕大多數的營養細胞，主要是分布於蜜蜂腹部的腹側（ventral

abdomen) [Kuterbach *et al.*, 1982; Kuterbach and Walcott, 1986a; 1986b; Hsu and Li, 1993]。營養細胞的形狀不甚規則，大部分類似於圓形，細胞的大小則差異頗大，直徑約從  $30\ \mu\text{m}$  至  $100\ \mu\text{m}$  皆有。鐵顆粒並非直接沉積於細胞中，而是藉由一特殊囊胞包覆著，稱之為「鐵沉積囊胞」(iron deposition vesicles, IDVs)(見【圖1.3】)。這些沉積在營養細胞內的鐵顆粒平均直徑約  $0.5 \pm 0.1\ \mu\text{m}$ ，並且隨機的分布於營養細胞的細胞質當中(見【圖1.4】)。從之前的研究中知道，蜜蜂體內的鐵顆粒並非與生俱來，沉積鐵的生物礦化機制是從蜜蜂羽化後的第二天開始，初期只能於主要的鐵沉積囊胞中發現一些極微小的沉積顆粒，直徑約  $7.5\ \text{nm}$ ，這些初期的微小顆粒被視為是後續沉積鐵的單元(位)。另外，觀察發現，這些鐵沉積囊胞的細胞內，靠近細胞膜周圍有一層雲霧狀的構造(見【圖1.3】)，科學家猜測鐵沉積囊胞就是靠這層構造將外界的鐵金屬沉積進囊胞內的。隨著蜜蜂成長，更多的鐵被沉積入囊胞中，並且被緊緊的包裹在鐵沉積囊胞的中央。過程中，這些鐵顆粒會漸漸變大並且會相互融合，成為更大的鐵顆粒(見【圖1.5】)，鐵顆粒會持續沉積直到羽化後第 25 天才發展成熟 [Hsu and Li, 1993] (見【圖1.6】)。這些成熟的鐵顆粒經過分析，發現它們主要成分為鐵和磷(phosphorus)，以及少許含量的鈣(calcium) [Kuterbach *et al.*, 1982; Kuterbach

and Walcott, 1986a ; 1986b ; Hsu and Li, 1993 ] ( 見【圖1.7】)。

## 1.8 蜜蜂的超順磁磁鐵 ( Superparamagnetic Magnetites in Honeybees )

首先，金屬的磁性可以根據磁化特徵分為順磁性、抗磁性與鐵磁性三種。其中，磁化方向與磁化磁場方向一致，當磁場移除以後磁化即消失，磁化率為一個確定的正值，稱為順磁性，例如鋁、鎢、鉑等，其磁化率約為 $10^{-4}$ 。磁化方向與磁化磁場方向相反，當磁場移除以後磁化也立即消失，磁化率為一個確定的負值，稱為抗磁性，例如銀、銅、鋅、石墨等、其磁化率約為 $10^{-5}$ 。最後一類金屬在沒有外加磁場作用時、仍具有自發的磁化，在外加磁場中呈現的磁化率遠大於1，可以為 $10^1$ ， $10^2$ ，甚至 $10^3$ ，稱為鐵磁性，例如鐵、鈷、鎳及其合金，以及某些金屬氧化物等。至於所謂的「超順磁性」(superparamagnetic)則是指其磁化率大於順磁性，但小於鐵磁性的磁化狀態，只有當粒子小到奈米尺度並且為鐵磁性物質時才能觀察到。

蜜蜂腹部營養細胞內的鐵顆粒雖然在 1982 年就已經被發現，但是這些鐵顆粒是否具有磁性則一直沒有確切的證據。蜜蜂的鐵顆粒具

有磁性是在 1994 年被證實，因為有超順磁磁鐵在蜜蜂的鐵顆粒中被發現〔Hsu and Li, 1994〕（見【圖1.8】）。藉由 High-resolution transmission electron microscopy (HRTEM) 觀察，發現在鐵顆粒中有許多微小的超順磁磁鐵結晶粒子，數目約 $8.5 \times 10^3$ 個左右，約佔整個鐵顆粒 30 % 的體積，這些超順磁磁鐵粒子的大小約 10 nm，隨機分佈於鐵顆粒中，這些遠小於任何已知單晶磁鐵的微小粒子，第一次明確地指出動物體內含有超順磁磁鐵，並且了解其形成的位置與大小。然而，後來有其他科學家質疑這項觀察，認為 Hsu 和 Li 觀察到的鐵顆粒有可能是一些完全鐵蛋白（holo-ferritin）降解後的產物，非真正具有磁性的磁鐵顆粒〔Nichol and Locke, 1995；Kirschvink and Walker, 1995；Nesson, 1995〕。於是 Hsu 在 2005 年間成功的純化出大量位在蜜蜂腹部營養細胞中的鐵顆粒，並且利用一些磁性鑑定技術證實這些被純化出來的鐵顆粒確實具有磁性。這些磁性鑑定技術包括了 superconducting quantum-interference device (SQUID)、atomic force microscope (AFM)、magnetic force microscope (MFM)、electron spectroscopy for chemical analysis (ESCA) 與 electron paramagnetic resonance (EPR) 〔Hsu, 2006；Hsu *et al.*, 2006a〕。



## 1.9 超順磁磁鐵的磁場導航機制

蜜蜂腹部的營養細胞內，被發現含有超順磁磁鐵（Superparamagnetic magnetites）的鐵顆粒。此外，蜜蜂腹部的腹側有一些神經元的末端（軸突），被發現會與一些營養細胞相連接，而這些神經元的軸突最後會連接於腹部神經索〔Hsu and Li, 1994〕（見【圖1.9】）。由於發現了蜜蜂的營養細胞會與神經系統相互連接，所以這些含超順磁磁鐵的鐵顆粒有可能是磁場感應受體，負責感應地球磁場，並且將訊號藉由相連接的神經元傳遞出去，進而影響蜜蜂的行為〔Hsu and Li, 1994〕。

至於含超順磁磁鐵的鐵顆粒如何影響蜜蜂的神經系統，進而影響蜜蜂的行為呢？Hsu 認為：如果超順磁磁鐵的排列方向與地球磁場方向平行，則因為超順磁磁鐵彼此互相吸引使得鐵顆粒會收縮；反之，如果排列方向與地球磁場方向垂直，則因為超順磁磁鐵彼此互相排斥使得鐵顆粒產生膨脹（見【圖 1.10】）。蜜蜂可能就是經由這些超順磁磁鐵的排列方式來造成鐵顆粒的收縮或膨脹，進而牽動營養細胞內的細胞骨架系統（cytoskeletal system）（見【圖 1.11】），將地球磁場訊息經由神經細胞傳送到腦部，因而啟動磁場導航機制（magnetoreception）來辨別方向。



## 1.10 研究方向與動機

由於之前的研究觀察到蜜蜂腹部腹側的營養細胞會與一些神經元軸突相連接，所以推測：這些含有超順磁鐵的細胞具有感應地球磁場，並且能將這些感應轉換成神經信號利用相連接的神經元傳遞出去。為了進一步探究這一項假設，我們嘗試尋找一些信息傳遞的證據。鈣離子 ( $\text{Ca}^{2+}$ ) 一向被視為是一種在信息傳遞中重要的二級訊息 (second messenger)，細胞藉由調節鈣離子的濃度來造成一些信息的產生與改變。舉例來說：當肌肉收縮 (muscle contraction)，荷爾蒙分泌 (hormone secretion)，酵素活化 (enzyme activation) 時，透過活化細胞膜上的 G 蛋白 (G protein)，便可以活化一連串的下游蛋白，使得細胞從內質網 (endoplasmic reticulum, ER) 釋放出鈣離子；或者是利用鈣離子通道 (calcium channel) 將外界的鈣離子直接送入細胞內。由於上述兩種方式都能夠使細胞內的鈣離子濃度增加，於是較高濃度的鈣離子會活化下游的攜鈣蛋白 (calmodulin，一種能與鈣離子結合的蛋白)，被活化攜鈣蛋白可以磷酸化 (phosphorylation) 下游更多的蛋白質激酶 (protein kinases, PKs)，進而調控基因表現或者是其他酵素的作用。

另外，根據超順磁磁鐵的磁場導航機制，我們知道，營養細胞中的超順磁磁鐵，會因為接受地球磁場的作用造成磁鐵粒子的膨脹或縮小，進而牽動細胞骨架(cytoskeletons)使其發生改變〔Hsu and Li, 1994〕。因此，我們想進一步了解這些細胞骨架是否真的參與其中。實驗設計上，我們選擇了幾種主要的細胞骨架抑制劑(cytoskeletal inhibitors)，觀察細胞的骨架在被抑制的情況下，鈣離子的訊號與未被抑制時有何不同。透過這樣的研究，我們希望可以了解究竟是何種細胞骨架從事這項工作，進而驗證磁場導航機制正確性。

