

分數_____

考生編號_____

二〇〇二年國際生物奧林匹亞國手選拔營實作試題

(第三試場 D205)

實驗所需要的器材及藥品，都已放在桌上，請按照下面的清單清點。若有缺少請舉手告訴評審老師。實驗完畢後，請將用過的器材清洗乾淨並放置整齊。

器 材 類		藥 品 及 材 料 類	
瓊脂膠體及電泳設備	1 套	病毒 A 某段基因擴增片段	1 管
油性筆	1 支	病毒 B 某段基因擴增片段	1 管
微量分注器 P10	1 支	病毒 C 某段基因擴增片段	1 管
白色吸管尖	1 盒	無菌水	1 管
微量離心管	1 杯	緩衝液	1 管
微量試管架	1 個	限制酵素甲	1 管
微量離心機	1 台	染劑	1 管
浮板	1 個	DNA 分子標記	1 管
廢棄物收集杯	1 個	碎冰	1 杯
水浴槽 (37°C, 共用)			

※請注意：

1. 桌上的藥品及器材用完後，將不再補充。
2. 本試卷（含封面、試題卷）共 4 頁，於交卷時全部繳回。
3. 作答時間 60 分鐘，請於本卷上作答。
4. 請於本頁右上角「考生編號」處，填入個人編號。

題目：DNA 聚合 擴增反應，限制酵素切割作用及膠體電泳分析

一、聚合 可在試管內擴增 DNA (請參見圖一)，所擴增的 DNA 片段再藉限制酵素切割及膠體電泳分析辨識之。假設離心管 A、B、C 中分別含病毒 A、B、C 的某段基因擴增片段，請依照下列步驟完成此三種病毒擴增片段的限制酵素切割作用及膠體電泳分析，並回答問題 a 及 b。

1. 取三支微量離心管，分別標記 A、B、C 與「個人辨識標示」。
2. 於 A 管中加入 $20\ \mu\text{l}$ 無菌水、 $3\ \mu\text{l}$ 緩衝液及 $1\ \mu\text{l}$ 限制酵素甲。
3. 混勻、短暫離心後分 $8\ \mu\text{l}$ 至 B 管與 C 管。
4. 於 A、B、C 各管中分別加入 $2\ \mu\text{l}$ 擴增片段。
5. 混勻、短暫離心後，插於浮板上置於 37°C 水浴 10 分鐘。
6. 反應完畢後從水浴槽中取出，短暫離心後，A、B、C 三管各加入 $2\ \mu\text{l}$ 染劑。
7. 混勻、短暫離心後，取 $10\ \mu\text{l}$ 置入洋菜膠體的樣品槽內。
8. 於另一個樣品槽內，置入 $8\ \mu\text{l}$ DNA 分子標記 (由上而下分別為 1198、517、396、350、192 個鹽基對)。
9. 電泳 100V，30 分鐘。
10. 於紫外光下照相，獲得實驗結果，並在相片背面寫上編號與試卷一起交回 (相片佔 30 分)。

問題 a：與 DNA 分子標記相較，B 病毒的擴增片段長度為何？ (5 分)

問題 b：A 病毒與 C 病毒相較，何者擴增片段較長？ (5 分)

二、假設某基因的一段序列（單股）及擴增其中部分片段所使用的引子序列如下，其中引子乙的序列與下列單股序列互補，今於試管內進行循環式的擴增反應，每一個循環的溫度為 94°C 30 秒，55°C 30 秒及 72°C 30 秒，請回答問題 a~f（每小題 10 分）。

病毒的一段單股序列：

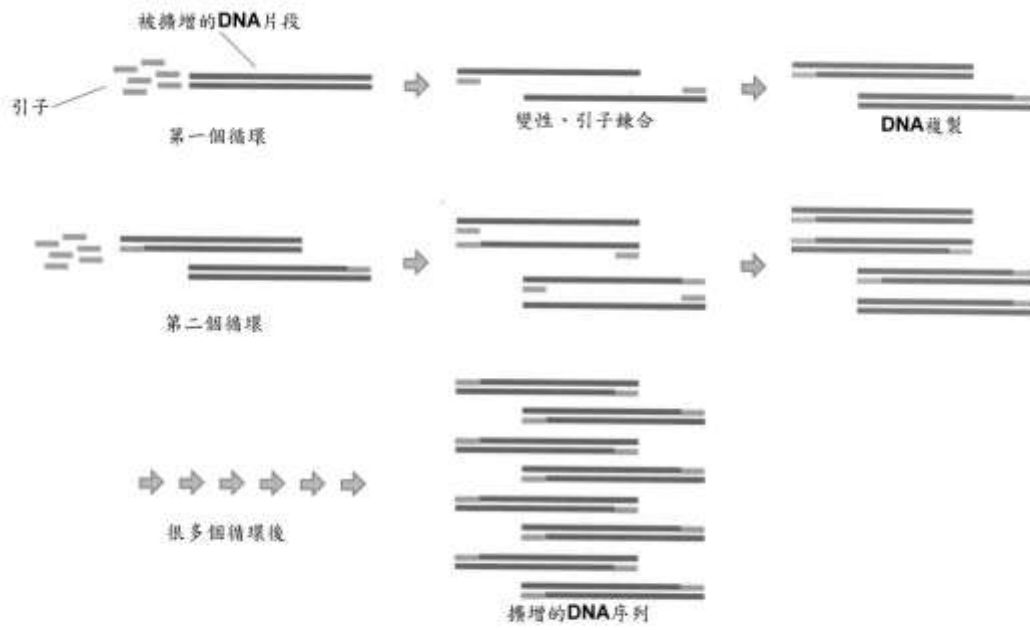
```
1  TCAACCCAGT  TCGGGTCATA  TATAGGGTGG  TGTTATAGCA  TAACCGCACG
51  ATCGGATCAT  AGGAATTTAA  GCCTATTCAC  GCCGGGGAAG  TCGGCATGTA
101 CGTGTGTGGA  ATCACCGTTT  ACGATCTCTG  TCATATCGGT  CACGGGCGTA
151 CCTTTGTTGC  TTTTGACGTG  GTTGCGCGCT  ATCTGCGTTT  CCTCGGCTAT
201 AAACCTGAAGT  ATGTGCGCAA  CATTACCGAT  ATCGACGACA  AAATCATCAA
251 ACGCGCCAAT  GAAAATGGCG  AAAGCTTTGT  GGCGATGGTG  GATCGCATGA
```

引子甲： TGGTGTTATAGCATAAC

引子乙： CATTTTCATTGGCGCGT

- 請於上列序列中標示出引子甲及乙的結合位置。
- 擴增反應所用的聚合 和一般細胞內複製 DNA 的聚合 有何不同？
- 每一個循環的 94°C 作用為何？
- 聚合 擴增 DNA 時需要什麼材料？
- 上述擴增循環中，那一個溫度會因不同的引子序列及長度而改變？
- 上述擴增反應的 DNA 片段為多少個鹽基對？

閱卷教授簽章 _____



圖一 DNA 聚合 擴增反應