

分數 \_\_\_\_\_

考生編號 \_\_\_\_\_

## 二〇〇三年國際生物奧林匹亞國手選拔營實作試題

## (第 C 試場 理 3019)

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。若有缺少的請馬上舉手告訴評審老師。實驗完畢後，請將用過的器材清洗乾淨並放整齊。

器 材 類		藥 品 及 材 料 類	
瓊脂膠體及電泳設備	一套	環狀質體 DNA	一管
油性筆	一支	無菌水	一管
微量分注器 P20	一支	限制酵素 A	一管
白色吸管尖	一盒	限制酵素 A 緩衝液	一管
微量離心管	一杯	限制酵素 B	一管
微量試管架	一個	限制酵素 B 緩衝液	一管
微量離心機	一台	DNA 分子標記	一管
浮板	一個	碎冰	一杯
廢棄物收集杯	一個		
水浴槽(共用)	一台		
膠尺	一支		
透明膠帶	一捲		

**\*\*\*請注意\*\*\***

1. 桌上的藥品及器材用完後，將不再補充。
2. 本試卷(含本頁、試題卷)共 6 頁，於交卷時全部繳回。
3. 作答時間 60 分鐘，請於本卷上之指定位置作答。
4. 請於本頁右上角「考生編號」處，填入個人編號。

## 題目：限制酵素切割環狀質體 DNA 及膠體電泳分析

一環狀質體 DNA 以二種不同限制酵素作用後，並以膠體電泳分析切割後所得 DNA 片段，請依照下列步驟完成限制酵素切割環狀質體 DNA 及膠體電泳分析，並回答問題。

1. 取二支微量離心管，分別標記 1、2 與「個人辨識標示」。分別於二支微量離心管內依序加入如下所述的無菌水、酵素緩衝液、質體 DNA 及限制酵素：

於 1 號管中加入：

無菌水 (9.5  $\mu\text{l}$ )

限制酵素 A 緩衝液 (1.5  $\mu\text{l}$ )

質體 DNA (3  $\mu\text{l}$ )

限制酵素 A (1  $\mu\text{l}$ )

於 2 號管中加入：

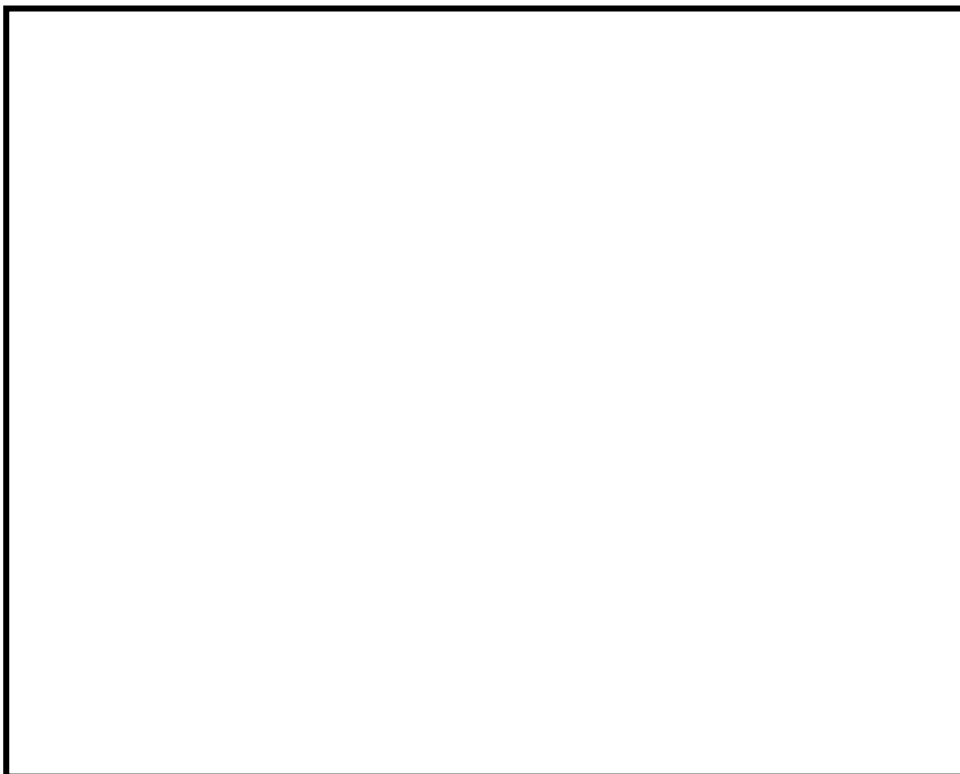
無菌水 (9.5  $\mu\text{l}$ )

限制酵素 B 緩衝液 (1.5  $\mu\text{l}$ )

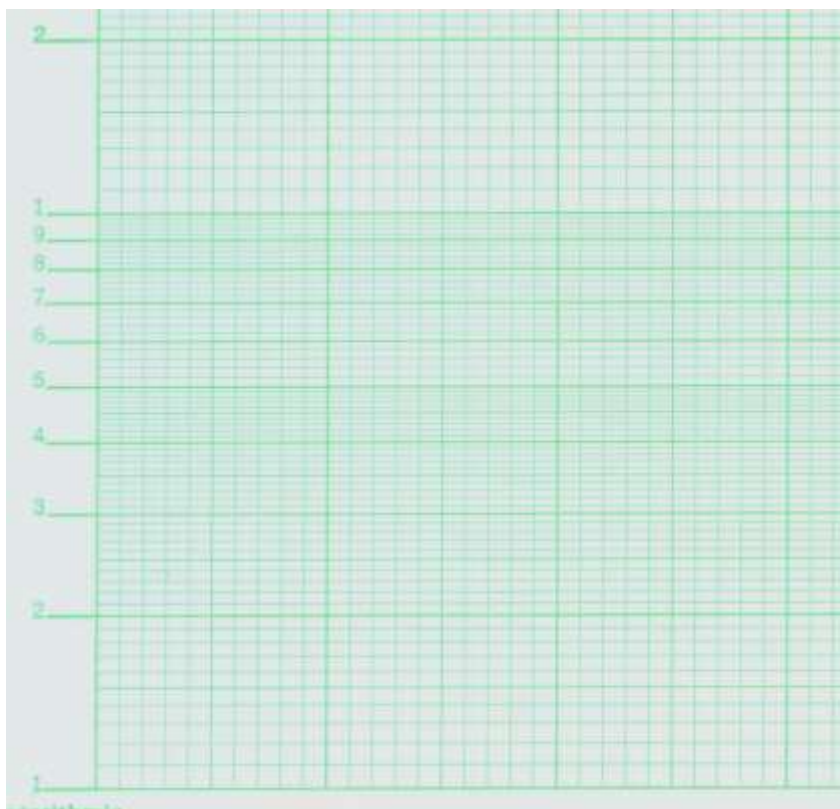
質體 DNA (3  $\mu\text{l}$ )

限制酵素 B (1  $\mu\text{l}$ )

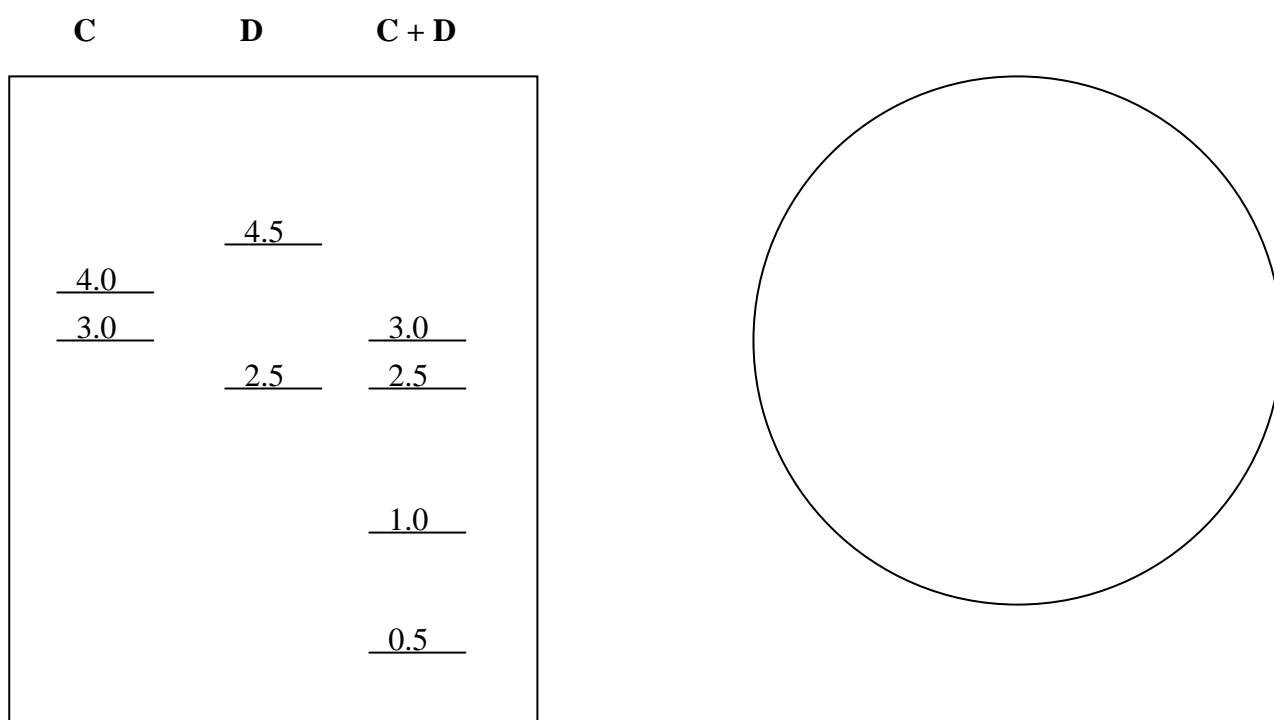
2. 混勻，短暫離心後，插於浮板上置入 37 °C 水浴 15 分鐘。
3. 反應完畢從水浴槽中取出，短暫離心後，於 1, 2 號管中分別加入 2  $\mu\text{l}$  染劑。
4. 混勻，短暫離心後，取 15  $\mu\text{l}$  分別置入洋菜膠體的樣品槽內。
5. 於另一樣品槽內置入 10  $\mu\text{l}$  DNA 分子標記 (由下而上分別為 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 10 Kb)。
6. 電泳 100 V, 25 分鐘。
7. 於紫外光下照相，取得照片，用膠帶貼在下面方格內，並在膠帶上寫上樣品號及編號 (相片及操作程序佔 30 分)。
8. 照片完成後，請給助教評分。



**問題 1.** 以膠尺測量相片上各 DNA 片段在電泳膠體中移動的距離，並標在下面所提供的半對數方格紙上（橫軸：移動的距離；縱軸：分子大小），由已知分子標記估計各個未知 DNA 片段的大小。（15 分）



**問題 2.** 假設一環狀質體 DNA 以限制酵素 C, D 切割，膠體電泳分析後，結果如下圖，請劃出限制酵素 C, D 在此一環狀質體 DNA 上可能的相對作用位置？（10 分）



**問題 3.** 自然存在的細菌體內有環狀質體 DNA，請列舉二個環狀質體 DNA 在細菌體內可能的功能？(12 分)

**問題 4.** 請舉一個質體 DNA 在生物技術上可能的應用？(10 分)

**問題 5.** 下列那些物種或胞器內含有環狀 DNA 分子？(A). 動物細胞核；(B). 葉綠體；(C). 粒線體；(D). 酵母菌；(E). 植物細胞核 (5 分)

**題組：**

某科學家希望由創傷弧菌(*V. vulnificus*)中篩選得到核酸分解酵素的基因。下列為他的一系列實驗過程與初步結果：

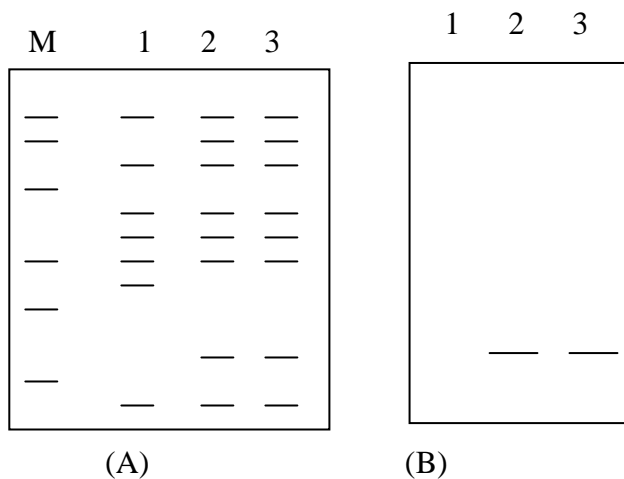
**【實驗一】**

- (1) 將來自創傷弧菌一段疑似核酸分解酵素的基因片段植入一個不含此種酵素基因的質體 pUC19 中，新的質體被命名為 pS1014。
- (2) 分別將上述兩種質體送進大腸桿菌(*E. coli*)內，分別成為含有質體的 *E. coli* (pUC19)和 *E. coli* (pS1014)。
- (3) 上述兩種大腸桿菌經分別培養後，離心以取得上清液(標示為樣本甲)；並將沉澱物打碎後，獲得萃取液(標示為樣本乙)。
- (4) 將樣本甲與樣本乙分別加至含不同大小的核酸片段的溶液中，作用一段時間後，利用核酸電泳分析。
- (5) 結果如表所示：

菌株	<i>E. coli</i> (pUC19)		<i>E. coli</i> (pS1014)	
樣本	甲	乙	甲	乙
核酸片段	+	+	-	+

註：+，在膠體上出現不同大小的核酸片段；-，在膠體上未測到任何核酸片段

**【實驗二】** 取實驗一中製備的樣本，利用蛋白質電泳進行核酸酵素活性的分析。結果如圖所示：



圖(A)為蛋白質電泳圖；圖(B)為核酸分解酵素活性電泳圖。在圖 B 中出現的 band 為具有酵素活性的表現。圖(A)及圖(B)上每一個代號分別表示進行電泳時的樣本：

M, 蛋白質分子量標準液(由上而下的分子量大小分別為：109 kD、80 kD、51 kD、34 kD、27 kD 及 16 kD)；

1, *E. coli* (pUC19)的樣本；

2, *E. coli* (pS1014)的樣本；

3, 經過 90°C 處理後的 *E. coli* (pS1014)樣本

【實驗三】實驗中又取細菌樣本分別與 DNA 與 RNA 片段進行作用後，進行核酸電泳分析。

結果如表所示：

作用受質	DNA		RNA	
作用溫度(°C)	37	70	37	70
核酸片段	+	+	+	-

註：+，在膠體上出現不同大小的核酸片段；

-，在膠體尚未測到任何核酸片段

根據上述所有實驗的結果，回答下列第 1 題~第 3 題，此三題均為複選題，每題 6 分，每答錯一選項扣 1.5 分：

- 下列有關具有核酸分解酵素活性樣本的推測，何者為正確？(6 分)
  - 酵素會被細菌分泌到細胞外
  - 酵素被分泌到胞外後會失去活性
  - 酵素存在於細胞內
  - 酵素只有在細胞內時才具有活性
  - 酵素同時存在於胞內與胞外
- 下列有關實驗二的實驗過程與結果的推測，何者為正確？(6 分)
  - 電泳時加入標示 1 的樣本為上清液
  - 電泳時加入標示 2 的樣本為萃取液
  - 電泳時加入標示 3 的樣本為萃取液
  - 核酸分解酵素的分子量約為 80 kD
  - 核酸分解酵素的分子量約為 20 kD
- 下列有關核酸分解酵素活性的推測，何者為正確？(6 分)
  - 此酵素的受質僅為 DNA
  - 此酵素的受質可以是 DNA 與 RNA
  - 此酵素針對 DNA 與 RNA 具有不同的活化位
  - 此酵素的活性不受高溫影響
  - 此酵素在高溫度時結構會發生改變