

考生編號_____ 分數_____

二〇〇六年國際生物奧林匹亞國手選拔營實作試題

第 B 試場

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。

A. 實驗器材：

器 材 類		藥 品 及 材 料 類	
油性筆	1 支	質體 DNA 樣本 (共四種處理)	4 管
微量分注器 P100	1 支	追蹤染料[6x loading dye 2 uL + EtBr(10mg/uL) 1uL]	3uL 1 管
微量分注器 P10	1 支		
微量離心管	10 支	1 X TAE buffer 300mL	1 杯
微量試管架	1 個	1 % agarose gel 6wells	1 片
紫外光燈箱 (共用)	3 台	黃色吸管尖 (20~200 uL)	1 盒
電源供應器 (共用)	5 組	白色吸管尖 (0.2~10 uL)	1 盒
電泳槽	10 組	碎冰	1 杯
廢棄物收集杯	1 個		
拍照系統 (共用)	1 台		
桌上型微量離心機 (共用)	5 台		

※ 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 3 頁，於交卷時全部繳回。
3. 作答時間 **60 分鐘**，請於本卷上作答。試題答案可寫至題目背面，但請註明並標上題號。
4. 請於本頁左上角「考生編號」處，填入個人編號。

一、實作題（共60分；操作30分）：

A. 質體 DNA 電泳分析（同學都必須帶手套！）

每一位同學會拿到四種樣品，請勿將樣品標示搞混了。

(a) 電泳

1. 取 4 個微量離心管並分別寫上樣品標示。
2. 以微量吸管分別吸取 10 μL 的質體 (plasmid) DNA 樣本，放入上述 4 個不同微量離心管中。
3. 分別加入 1.5 μL 的追蹤染料 (Loading dye 含 EtBr 可染 DNA)。到上述試管中。使用微量吸管混合樣本。
4. 將上述微量離心管置入微量離心機中，離心數秒，使樣本集中於管底。
5. 使用微量吸管將樣本注入 1% 瓊脂膠體 (agarose gel) 的樣品槽中。
6. 一旦樣本加好後，連結電源供應器並打開電源。
7. 設定電壓 100 伏特 (volt)，進行電泳 35 分鐘。
8. 電泳完成後將電源關閉並拔除電源連接線。
9. 取出膠片置於紫外燈箱 (ultraviolet transilluminator)，關上防護罩，開啟電源觀察電泳結果，請助教協助拍照，並保留照片以供分析電泳結果（照片請隨答案卷繳回）。注意--紫外光會對你的眼睛造成傷害，在沒有防護罩的情況下，絕不直視光源。

(b) 分析電泳結果（20 分）

你的 4 個樣品有一個是 DNA 大小標記混合物含 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 和 3000bp DNA，另外三管分別為剛萃取到的質體 DNA、以一個限制酶切割過的質體或以兩個限制酶切割過的質體 DNA。請在你的電泳結果照片上標示樣品標號，並分析圖上每個 DNA 條帶的意義。

(c) 如果步驟 4 的瓊脂膠片改成 1.5% 你認為電泳結果會有什麼不同？（5 分）

(d) 如果步驟 6 的電壓改成 150 伏特或電泳時間延長成 70 分鐘，你認為結果又會有何不同？（5 分）

二、大部分的限制酶可辨識_____個至_____個核苷酸序列，且此小段核苷酸序列具_____的性質。若限制酶切割下來的 DNA 片段具有單股的末端，此末端稱為_____，可與其呈互補序列的外來基因藉_____酶組成重組 DNA。

(10 分)

三、由於 DNA 分子帶_____電荷，因此在膠體電泳分析的實驗中，置於樣品槽(well)的 DNA 片段會向_____極移動，且 DNA 片段移動的距離，與鹼基對的長度呈_____關係。(6 分)

四、何謂限制片段長度多型性(restriction fragment length polymorphisms, 簡稱 RFLPs)? 為何其可用來建立遺傳圖譜(genetic map)? (12 分)

五、在遺傳工程進行基因轉殖的實驗中，為分辨送進細菌中的載體是重組質體(recombinant plasmids)還是空的質體(empty plasmids)，只要觀察生長於含有 IPTG 與 X-gal 培養基的細菌形成白色或藍色菌落即可辨識，這是因質體 DNA 與外來基因的銜接處設計了哪一種特殊基因所造成的? 又白色或藍色菌落形成的原因為何? (IPTG: isopropylthio- β -D-galactoside, 異丙基硫代半乳糖苷; X-gal: 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactoside, 五溴四氯三吲哚 β -D-半乳糖苷) (12 分)

