

考生編號：_____ 分數_____

二〇〇九年國際生物奧林匹亞國手選拔營實作試題

第 C 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	DNA 標記樣本 (M)	4 管
微量分注器 P100	1 支	四隻豬的 DNA 經引子對增幅的產物 (A, B, C 及 D 管)	
微量分注器 P20	1 支	追蹤染料[6x loading dye 2 μ L + EtBr(10mg/uL) 1uL] 3 μ L	1 管
微量離心管	1 支	1 X TAE buffer 300 mL	1 杯
微量試管架	1 個	1 % agarose gel 6 wells	1 片
紫外光燈箱 (共用)	2 台	黃色吸管尖 (20~200 μ L)	1 盒
電泳槽	1 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 5 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（操作30分）：

微衛星（microsatellites）是位於基因體中不定數目之重複性短片段[例如： $(CA)_n$]。科學家可以設計PCR引子對將微衛星片段增幅出來，你拿到的樣品是我們針對豬的四條染色體上的四種微衛星，設計四組引子對（multiplex），並事先試驗出最佳的反應條件，可以同時將四個微衛星的不同重複DNA增幅出來，所以你可以根據膠體電泳的結果來判斷個體之間的關係。

A. 微衛星 DNA 片段電泳分析(實驗全程都必須帶手套！因為追蹤染劑中含 EtBr 為致癌物)。

每一位同學會拿到 6 根試管四種微衛星樣品分別裝有(A, B, C 及 D 管)、DNA 大小標記 (M 管) 和追蹤染劑。

請勿將樣品標示混淆！

(a) 電泳

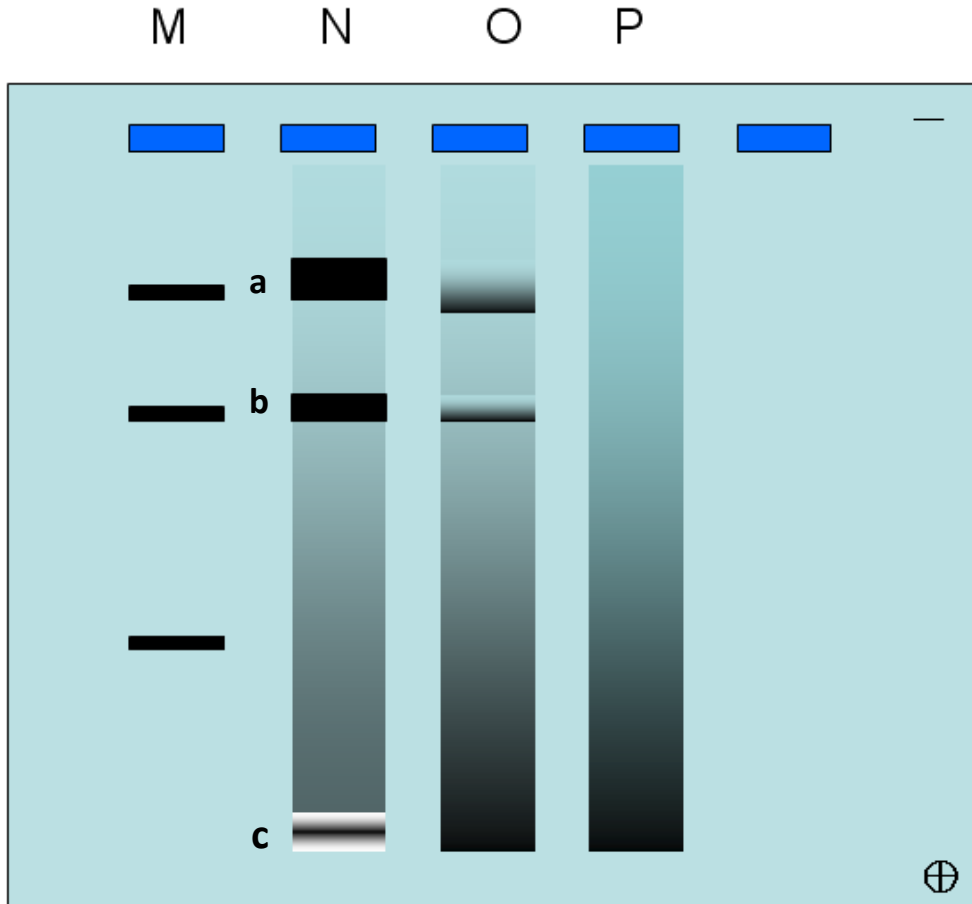
1. 取 5 個微量離心管並分別寫上樣品標示。
2. 以微量吸管分別吸取 10 μ L 的 DNA 樣本，分別放入上述標示好的 5 個不同微量離心管中。
3. 再分別將 1.5 μ L 的追蹤染料（Loading dye 含 EtBr 可染 DNA）加到上述試管中，並使用微量吸管將樣本充份混合。
4. 將上述微量離心管置入微量離心機中，短暫離心 10 秒，使樣本集中於管底。
5. 使用微量吸管將樣本依序注入 1%瓊脂膠體（agarose gel）的樣品槽中。
6. 樣本加好後，連結電源供應器並打開電源。
7. 設定電壓 100 伏特（volt），進行電泳 25 分鐘。
8. 電泳完成後將電源關閉並拔除電源連接線。
9. 取出膠片置於紫外燈箱（ultraviolet transilluminator）上，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，絕對不可直視光源。

- (b) 請在你的電泳結果照片上標示樣品標號，並分析下列個體的可能關係。
(24 分)

樣品	兩個個體的可能關係
A 和 B	
A 和 C	
A 和 D	
B 和 C	
B 和 D	
C 和 D	

- (c) 如果想要確認 A 和 B 的關係，應該如何做實驗證明？(7 分)
- (d) 如果 A 是一隻生長性能很好的豬，售價非常貴，你應該會想要買他的後代來飼養，因為可以長得快賺得多。如果有人賣 D 豬給你，並且強調牠是 A 豬的後裔，請問你如何依據你的試驗結果決定是否購買？(7 分)

二、如果鈴鈴同學將豬隻肝臟 RNA 萃取出來後，直接使用瓊脂膠體電泳法將其依大小分開於膠體中，下圖為可能的結果（M 行為 RNA 分子量標記含有 1000、2000 與 4000 bp 核酸）：（16 分）



- 請問最理想的 RNA 電泳結果應該是哪一行？
- 如果鈴鈴同學得到的結果是 N 行，請問 a, b 及 c 三條條帶可能分別代表什麼？
- 如果鈴鈴同學得到的結果是 O 行，請問靠近正極的物質代表什麼？
- 為什麼會得到 P 行的結果？

三、下列是遺傳學上著名的實驗。(16分)

- ①實驗材料是大腸桿菌 (*E. coli*) 和T₂噬菌體
- ②A組之T₂噬菌體以³²P標定病毒的DNA
- ③B組之T₂噬菌體以³⁵S標定病毒的蛋白質

將A組或B組T₂噬菌體分別感染大腸桿菌，請你依可能的實驗結果回答下列問題：

(1)使用A組T₂噬菌體感染大腸桿菌後，利用果汁機將病毒外鞘打離細菌，經高速離心10分鐘，獲得沈澱和懸浮液。

- a. 請問沈澱物主要含有_____
- b. 懸浮液中主要含有_____
- c. ³²P放射線活性會在哪一層_____，為什麼？_____

(2)使用B組T₂噬菌體感染大腸桿菌後，利用果汁機將病毒外鞘打離細菌，經高速離心10分鐘，獲得沈澱和懸浮液。

- a. 請問沈澱物主要含有_____
- b. 懸浮液中主要含有_____
- c. ³⁵S放射線活性會在哪一層_____，為什麼？_____