

考生編號\_\_\_\_\_ 分數\_\_\_\_\_

## 二〇〇五年國際生物奧林匹亞國手選拔營實作試題

### 第 A 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	細胞	1 管
微量分注器 P1000	1 支	Chelex, 10% 600uL	1 管
微量分注器 P100	1 支	7.5 mM NH <sub>4</sub> OAc, 200uL	1 管
微量分注器 P10	1 支	-20°C 預冷之 100%酒精, 400uL	1 管
微量離心管	1 盒	-20°C 預冷之 70%酒精, 1mL	1 管
微量試管架	1 個	Glycogen (5mg/mL), 5uL	1 管
浮板	1 個	無菌水, 1mL	1 管
廢棄物收集杯	1 個	藍色吸管尖	1 盒
光電比色機 (測 DNA, 共用)	3 台	黃色吸管尖	1 盒
水浴槽 (100°C, 共用)	4 組	白色吸管尖	1 盒
微量離心機 (37°C, 共用)	4 台	碎冰	1 杯
剪刀	1 把	夾子	1 把

#### ※ 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。

**B.試題：**

**一、實作題：**

**a. 萃取口腔DNA (40分)**

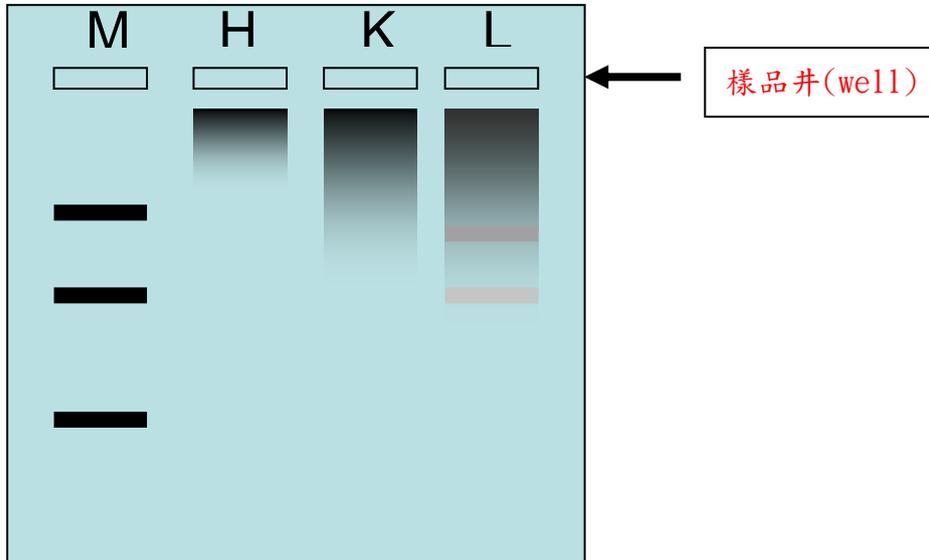
助教已經完成步驟 1 至 5 請由步驟 6 開始做你的實驗

1. 使用油性筆在無菌的 15 mL 培養試管(藍色蓋子)之一側做標記，內含 10 mL 無菌之生理食鹽水。每人抽取自己的口腔 DNA。
2. 將 10 mL 無菌之生理食鹽水全部倒入口中，並且劇烈漱口 10 秒，保留試管待下一步驟使用。
3. 將口中之溶液吐到紙杯中，再小心的倒回試管中並鎖緊蓋子。
4. 將試管離心 10 分鐘，以便在底部形成細胞沈澱，離心機由監考老師操作，並在離心完成後幫你們拿回來。
5. 拿回試管後小心不要搖動到沉澱，並將上清液儘量倒掉，將含有沉澱之試管置冰浴中。
6. 以微量吸管加 500 uL 10% 之 Chelex 於試管中：
  - a.以剪刀剪去微量吸管頭前端 2~3 mm。
  - b.以微量吸管在 Chelex 溶液中吸放數次，以使 Chelex 顆粒懸浮。
  - c.在 Chelex 沈降前，吸 500 uL 溶液到培養試管中。
7. 在試管中以微量吸管吸放數次，以使細胞懸浮於 Chelex，並將試管置於光線下檢查，看是否還有細胞塊殘留。
8. 將溶液全部移到一個乾淨的 1.5 mL 反應試管中，並做好標記。
9. 將反應試管置於沸水中水浴 10 分鐘。
10. 水浴後，小心的將試管以夾子取出，並置於冰浴中 1 分鐘（也可以更久）。
11. 將試管放入微量離心機中，離心 10000 RPM 30 秒，以便將 Chelex 顆粒形成沉澱。
12. 吸取 200 uL 上清液到一新的 1.5 mL 試管中，並做好標記；要避免吸到沉澱，之後將試管置於冰浴。
13. 於 DNA 樣品中加入 0.5 倍體積之 7.5 mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$  及 2 倍體積-20°C 預冷之 100%酒精，並加入 1ul 之 Glycogen 幫助沉澱。混合均勻後離心。
14. 以 1,4000RPM 離心 10 分鐘，此時可看見白色之 DNA 沉澱物。
15. 去除上層液後加入 500ul -20°C 預冷之 70%酒精，些微振盪後以 1,4000 xg 離心 1 分鐘。去除上層液後交給老師。

**b.測定 DNA 濃度(20 分)**

16. 請你稀釋部分助教給的 DNA（稀釋 10 倍或更多）使其體積成為 100 uL，置於光電比色機測 260 波長的吸收光值（已知 1 單位 A260 的 DNA 相當於 50 ug/mL 的濃度），請你計算出你的樣品 DNA 的濃度。務必列出測完吸光值後的計算。

二、DNA的大小可利用瓊脂凝膠電泳法將之依大小分開於膠體中。如果我們將3位同學（H、K、L）抽取到的DNA進行瓊脂凝膠電泳分析，下圖為可能結果（M行為分子量標記含有1000、2000與3000鹼基對）請問哪一位同學抽取到的DNA品質最好？為什麼？(20分)



三、設計一個實驗證明DNA複製時是呈現半保留的。(20分)

閱卷教授簽章\_\_\_\_\_