

# 樂善堂顧超文中學

## 生物科

### 實驗習作(第二十六至三十課)

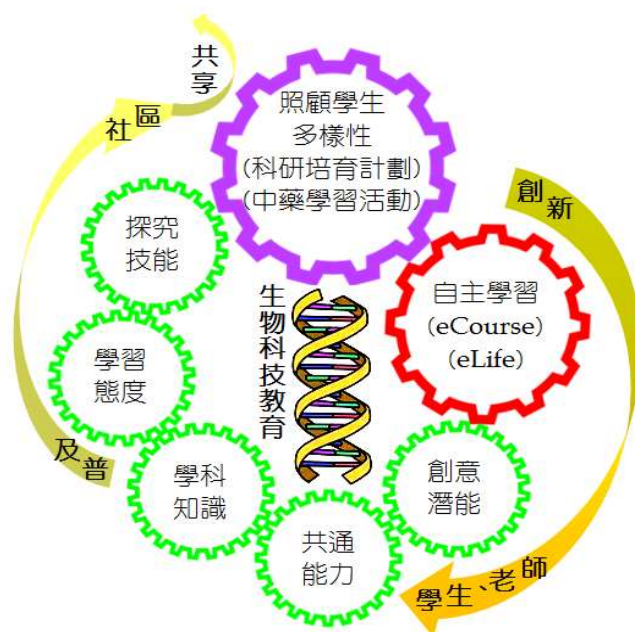
實驗活動	
1	認識生物科技研習室 (科研室) (A) 儀器和設備 (B) 親子鑑證
2	提取 DNA

姓名：\_\_\_\_\_ 班別：\_\_\_\_\_ ( )

# 樂善堂顧超文中學



## 生物科技教育在顧中 STEM Ed@biology.kcm (中四 生物科)



## 實驗活動 (1) :

### 生物科技研習室 (科研室)

生物科技研習室 (科研室) 位於四樓生物實驗室內。同學們可運用科研室的儀器和設備，例如 凝膠電泳套件、聚合酶鏈反應器、組織培養櫥，進行有關生物科技的科研探究。



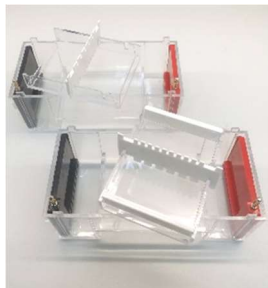
使用科研室的規則與一般實驗室相同，例如：

- 未經許可，不得擅進
- 嚴格遵從老師指示
- 不應在實驗室內飲食、追逐或嬉戲
- 如遇意外或儀器損毀，應立即向老師報告
- 實驗後應立即洗手

## (A) 儀器和設備



微量加液器



凝膠電泳套件



微離心機



離心機



平台式搖盪器



聚合酶鏈反應器



凝膠電泳成像儀



高壓滅菌器



組織培養櫥



組織培養器

完成下表，配對各儀器和設備與其功用：

儀器和設備	功用
高壓滅菌器	利用高溫高壓進行滅菌處理
凝膠電泳套件	利用電場作用分離 DNA
組織培養櫥	提供無菌環境進行實驗
離心機	利用離心力分離不同密度的物質
凝膠電泳成像儀	展示凝膠電泳結果
聚合 鏈反應器	利用變溫循環程式擴增 DNA
組織培養器	維持適合環境培養細胞
微離心機	利用離心力混和溶液
平台式搖盪器	透過旋轉混合不同試劑
微量加液器	準確移取(極)少量液體

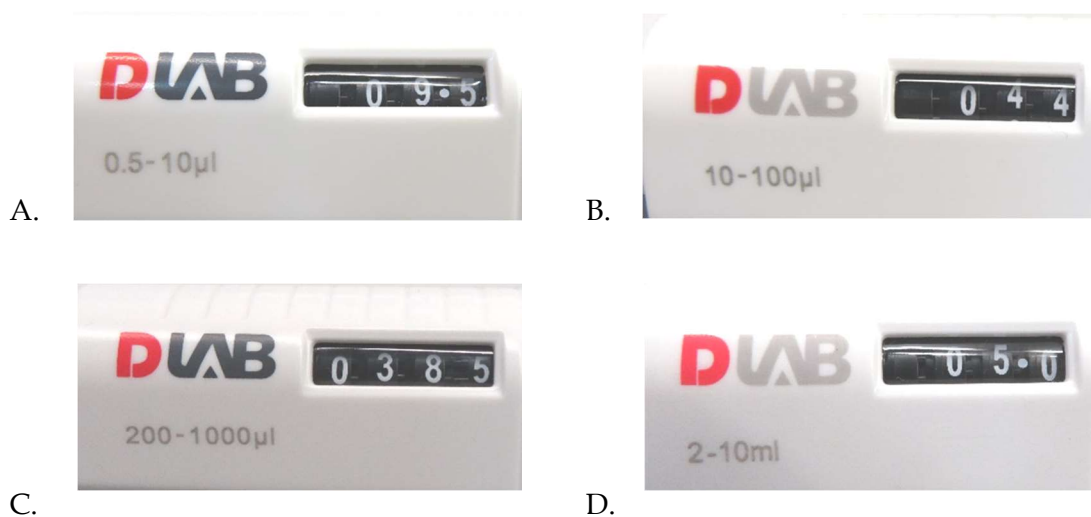
(a) 微量加液器 功用：準確移取(極)少量液體



科研室內有以下四種微量加液器：



(i) 完成下表，寫出它們的容量範圍及容量顯示窗所示的容量：



	容量範圍	容量顯示窗所示的容量
A.	0.5 - 10 µl	9.5 µl
B.	10 - 100 µl	44 µl
C.	200 - 1000 µl	385 µl
D.	2 - 10 ml	5.0 ml

(1 ml = 1000 µl)



- (ii) 使用微量加液器前，須套上一個恰當大小的吸頭，被移取的液體只與吸頭接觸：



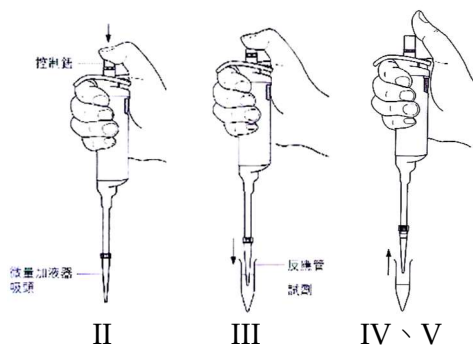
微量加液器的容量範圍	一般吸頭的顏色
0.5 - 10 $\mu\text{l}$	透明
10 - 100 $\mu\text{l}$	黃色
200 - 1000 $\mu\text{l}$	藍色
2 - 10 ml	透明

- (iii) 使用微量加液器的步驟：



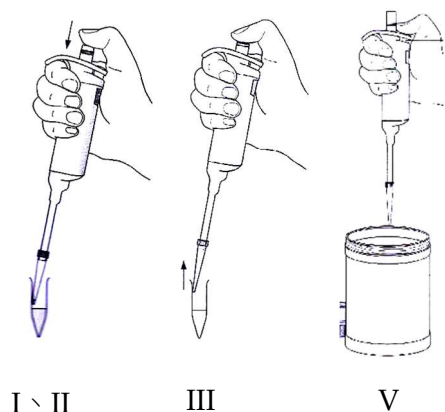
- 根據微量加液器容量範圍，選擇合適的微量加液器
- 轉動容量調整旋鈕調校所需的容量，並仔細檢查容量顯示窗所示的讀數：**切勿把容量調整旋鈕轉動至超過最低或最高的容量範圍，以免損壞微量加液器**

- 吸取液體：
  - 在微量加液器末端**緊緊**套上一個吸頭，避免用手觸摸吸頭，並於取用吸頭後立即蓋上盒蓋



- 用拇指**輕按**控制鈕至第一阻力位置
- 保持微量加液器**垂直**，把吸頭浸入須吸取的液體 / 反應管試劑內
- 慢慢**鬆開拇指，直至控制鈕返回原本位置
- 保持微量加液器**垂直**，把吸頭移離液體

- 釋出液體：
  - 把微量加液器的吸頭放入盛載釋出液體的容器中



- 用拇指**輕按**控制鈕至第一阻力位置，然後至第二阻力位置，確保吸入的所有液體能完全釋出
- 繼續**按着控制鈕，把吸頭移離容器
- 慢慢**鬆開拇指，直至控制鈕返回原本位置
- 把微量加液器移至盛載棄置吸頭的容器中，**輕按**彈射鈕以棄丟吸頭

- 把微量加液器放回架上

練習：

1. (a) 為什麼在吸取液體的過程中，須慢慢鬆開拇指，令控制鈕返回原本位置？

避免吸取的液體進入微量加液器，以免微量加液器受污染

- (b) 為什麼當微量加液器吸頭盛有吸取的液體時，須保持微量加液器垂直？

避免吸取的液體進入微量加液器，以免微量加液器受污染

2. (a) 為什麼微量加液器的吸頭，在使用前須進行消毒？

避免移取的液體受污染

- (b) 寫出使用微量加液器時，轉換吸頭以移取不同液體的一項優點。

在不需清洗的情況下，相同的微量加液器只須轉換吸頭，便可移取不同的液體

3. 下圖顯示一支微量加液器：



- (a) 寫出微量加液器的容量範圍。

200 - 1000 µl

- (b) 寫出微量加液器容量顯示窗所示的容量。

885 µl

- (c) 完成下表，寫出微量加液器某些部分 (A 及 B) 的名稱及其功用：

部分	名稱	功用
A	容量調整旋鈕	調校所需的容量
B	彈射鈕	棄去吸頭

4. 完成下表，根據科研室內四種微量加液器的容量範圍 (0.5 - 10 µl、10 - 100 µl、200 - 1000 µl、2 - 10 ml) 及需移取液體的體積，選擇合適的微量加液器：

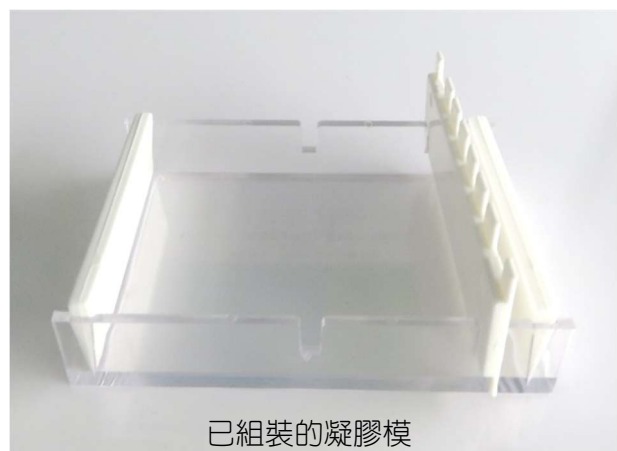
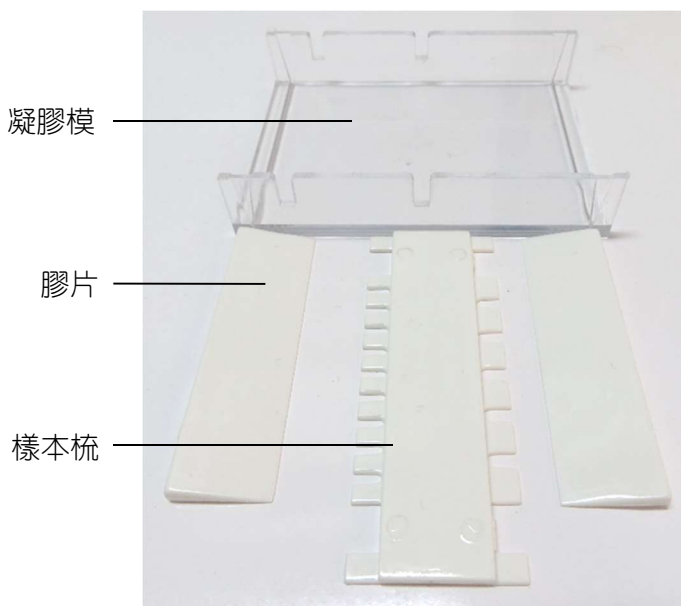
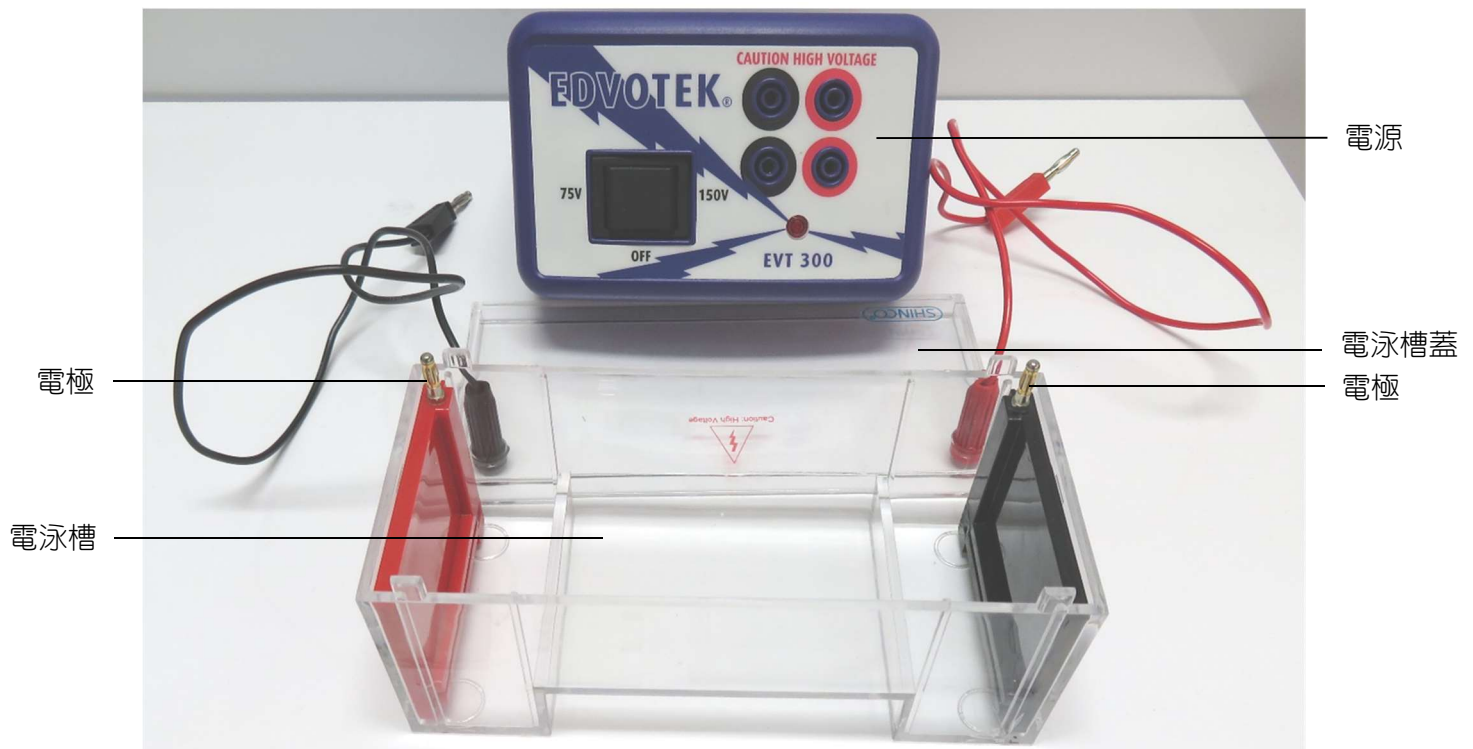
移取液體的體積 (µl)	5	50	500
合適的微量加液器	0.5 - 10 µl	10 - 100 µl	200 - 1000 µl

(b) 凝膠電泳套件

功用：利用電場作用分離 DNA

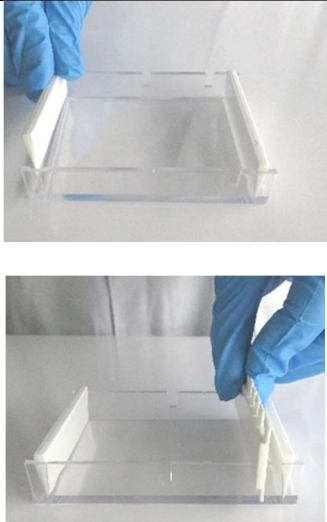
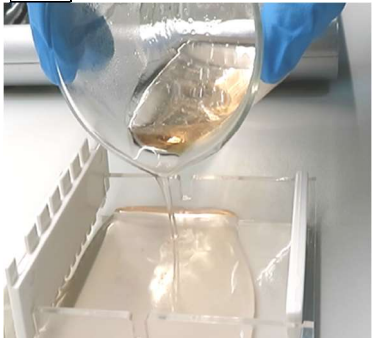
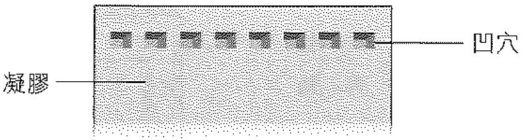
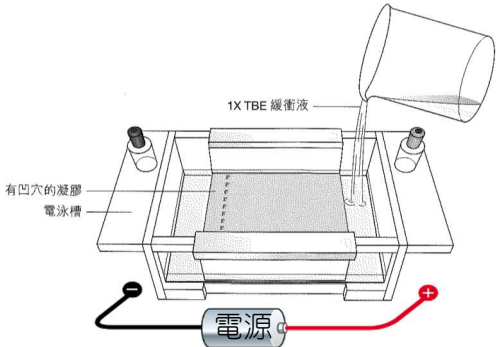
凝膠電泳是一種按電荷和大小，把大分子（如 DNA 和蛋白質）分離的技術。在電場作用下，帶負電荷的 DNA，以不同速度穿過凝膠中的小孔，移向正極，最後分離。凝膠對於較短 DNA 片段阻力較小，所以較短 DNA 片段的移動比較長 DNA 片段快。最終，根據 DNA 長度分成不同的 DNA 片段（DNA 片段也可稱為 DNA 帶）。

凝膠中的 DNA 片段必須經過染色，才可用肉眼看見 DNA 片段的位置。

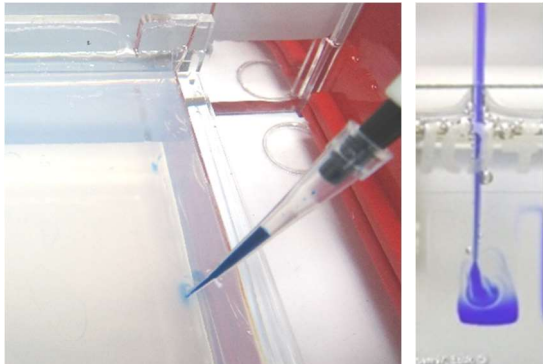
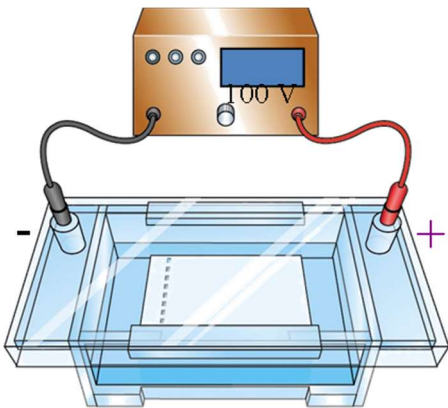




步驟： (1) 製作凝膠

步驟	備註
1. 在燒杯或錐形瓶內混和 20 cm <sup>3</sup> 1X TAE 緩衝液及 0.4 g 瓊脂糖粉末，以製作 2% 瓊脂糖溶液 (1 cm <sup>3</sup> = 1 ml)	➤ 瓊脂糖 (從海草提取的糖分) - 凝膠內有很多 <b>小孔</b> ，與 DNA 分子大小相若，在電泳中作篩選作用
2. 把混合物放在電熱板上加熱，直至瓊脂糖完全溶解	-
3. 在瓊脂糖溶液的混合物中加入 6 µl SYBR 染色劑	➤ SYBR 染色劑會與 <b>DNA</b> 結合，在藍光照射下呈螢光綠色，以顯示 DNA 片段
4. 讓瓊脂糖溶液的溫度降至約 60°C	-
5. 用膠片密封凝膠模兩端，並把樣本梳插入凝膠模	
6. 把冷卻至約 60°C 的混合物，慢慢地倒入凝膠模內	<p>➤ 瓊脂糖溶液慢慢注入凝膠模，避免產生<b>氣泡</b></p> 
7. 凝膠凝固後，慢慢垂直拔出膠片及樣本梳	<p>➤ 凝膠會出現一排凹穴</p> 
8. 把凝膠連同凝膠模放入電泳槽內，有凹穴的一邊應放在負極(-)位置；然後在電泳槽內加入 1X TAE 緩衝液，直至緩衝液完全覆蓋凝膠，避免凝膠乾裂	<p>➤ 緩衝液能<b>導電</b>及保持恆定 <b>pH</b> 值</p> 

(2) 加載 DNA 樣本及進行凝膠電泳

步驟	備註
1. 在微量加液器末端緊緊套上一個吸頭，吸取 10 $\mu$ l 已混合上樣緩衝液與追蹤染劑的 DNA 量標溶液，把吸頭移到第一個凝膠凹穴內，避免吸頭接觸凝膠， <b>慢慢注入 DNA 量標溶液</b> ，完成後棄丟吸頭	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 上樣緩衝液與追蹤染劑，含<b>高</b>密度分子(如甘油)及染劑</li> <li>➤ DNA 量標溶液含已知長度線狀片段，透過比較 DNA 量標及 DNA 片段<b>位置</b>，可估計 DNA 片段<b>大小</b></li> </ul> 
2. 使用微量加液器，分別把 10 $\mu$ l 已混合上樣緩衝液與追蹤染劑的不同 DNA 樣本， <b>慢慢注入</b> 到各個凝膠凹穴內。每次注入另一個樣本前，必須使用新吸頭	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 當微量加液器完全釋出 DNA 樣本後，繼續按着控制鈕，<b>慢慢垂直地</b>把吸頭移離電泳槽，以避免<b>吸走</b>已注入凹穴內的 DNA 樣本</li> <li>➤ 不要在凹穴注入過量 DNA 樣本</li> </ul>
3. 蓋上電泳槽蓋，把電線連接電源。開啓電源，調校電壓至 100-150 伏特的直流電，以形成電場驅動 DNA 片段向正極移動	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 開啓電源後，電極應有<b>氣泡</b>產生</li> <li>➤ 凹穴一邊應放在<b>負 / 陰(-)</b>極位置</li> </ul> 
4. 當追蹤染劑到達凝膠末端約 1 cm 位置，關閉電源	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 不要長時間進行凝膠電泳，以避免 DNA 樣本<b>離開</b>凝膠</li> <li>➤ 凝膠可在 4°C 保存數個月</li> </ul>

練習：

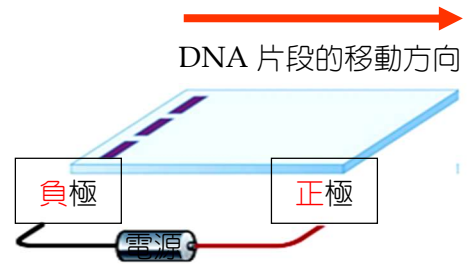
1. (a) 為什麼 DNA 帶負電荷？

DNA 的磷酸鹽團基帶負電荷

- (b) 在右圖：

(i) 填寫電源的正、負極

(ii) 以箭咀標示通電後 DNA 片段的移動方向



2. 為什麼製作瓊脂糖凝膠時，

- (a) 加入 TAE 緩衝液？

TBE 緩衝液能導電及保持恆定 pH 值，有助 DNA 片段的移動及減少降解

- (b) 加入 SYBR 染色劑？

SYBR 染色劑會與 DNA 結合，在藍光照射下呈螢光綠色，以顯示 DNA 片段

- (c) 避免產生氣泡？

凝膠中的氣泡阻礙 DNA 片段的移動，影響實驗結果

3. (a) 把上樣緩衝液和 DNA 樣本混合有什麼作用？

上樣緩衝液含高密度分子，增加 DNA 樣本密度，使 DNA 分子沉降至凹穴的底部

上樣緩衝液含染劑，有助我們把 DNA 樣本注入凹穴時能清楚看見樣本

- (b) 把追蹤染劑與 DNA 樣本混合有什麼作用？

追蹤染劑讓我們監察 DNA 樣本在凝膠內的移動情況

4. (a) 較短或較長的 DNA 片段會移動得較快？為什麼？

較短的 DNA 片段。凝膠對較短 DNA 片段移動的阻力較小

- (b) 如果凝膠中瓊脂糖濃度增加，DNA 片段的移動和凝膠中的 DNA 指紋會出現什麼變化？試述原因。

DNA 片段會移動得較慢

原因：當凝膠中瓊脂糖的濃度增加，凝膠中的小孔變得更小，使較小 DNA 片段分離得更佳，較小 DNA 片段能更清晰出現；但較大 DNA 片段的分離難以進行，較大 DNA 片段會變得模糊

5. 怎樣可縮短實驗時間？試提出這個方法的一個缺點。

使用更高電壓

缺點：高電壓所產生的熱會降低分辨率，降低凝膠中 DNA 指紋的清晰度，甚至會把凝膠熔化

6. 在下列情況下，DNA 片段有什麼變化？

- (a) 連接電泳槽的負(陰)極和正(陽)極互相對調

DNA 片段會向相反方向移動，並在短時間內離開凝膠，結果凝膠內沒有 DNA 樣本

- (b) 進行電泳的時間過長

DNA 片段會離開凝膠，結果凝膠內沒有 DNA 樣本

7. 試舉出凝膠電泳的兩項用途。

DNA 指紋分析 / 親子鑑證 / 法證科學 / 鑑定遇難者身份

(c) 凝膠電泳成像儀

功用：展示凝膠電泳結果



使用步驟：

1. 雙手緊握蓋子兩邊手柄，並小心向上提起以打開蓋子（圖 1），把蓋子移放在一旁
2. 把凝膠放在成像儀底部的中央位置（圖 2）
3. 雙手緊握蓋子兩邊手柄，並小心向上提起以蓋回蓋子
4. 開啓電源以開啓藍光
5. 在橙色濾鏡觀察窗進行觀察（圖 3）

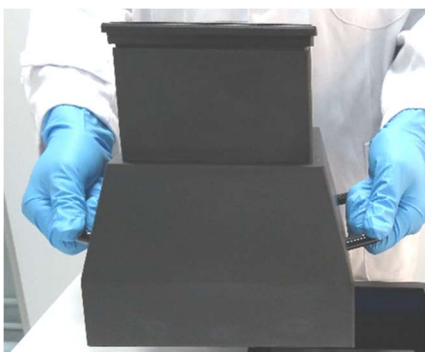


圖 1

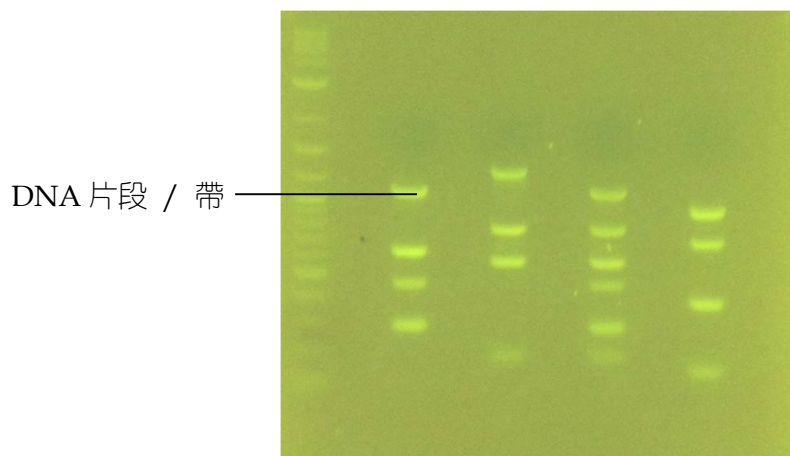


圖 2



圖 3

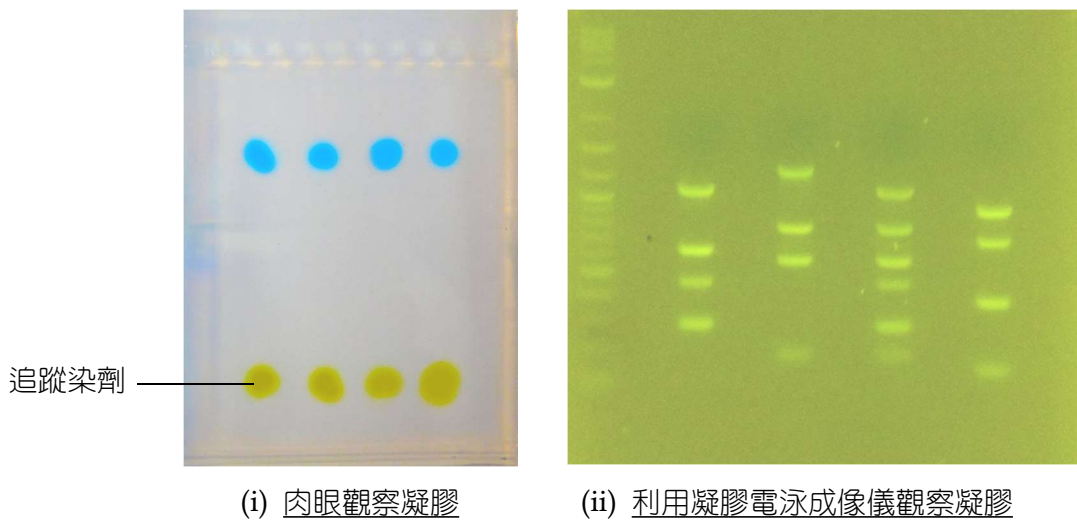
下圖展示以凝膠電泳成像儀觀察的 DNA 指紋：



凝膠中的 SYBR 染色劑與 DNA 結合，透過橙色濾鏡觀察，DNA 片段在藍光照射下呈螢光綠色

練習：

1. 下圖展示利用 (i) 肉眼觀察凝膠 及 (ii) 凝膠電泳成像儀觀察凝膠的情況：



開啓凝膠電泳成像儀的電源後，肉眼觀察到的追蹤染劑有沒有在藍光照射下呈螢光綠色？為什麼？

沒有

凝膠中的 SYBR 染色劑只與 DNA 結合，只有 DNA 片段 / 帶呈螢光綠色

2. 觀察窗的橙色濾鏡有什麼功用？

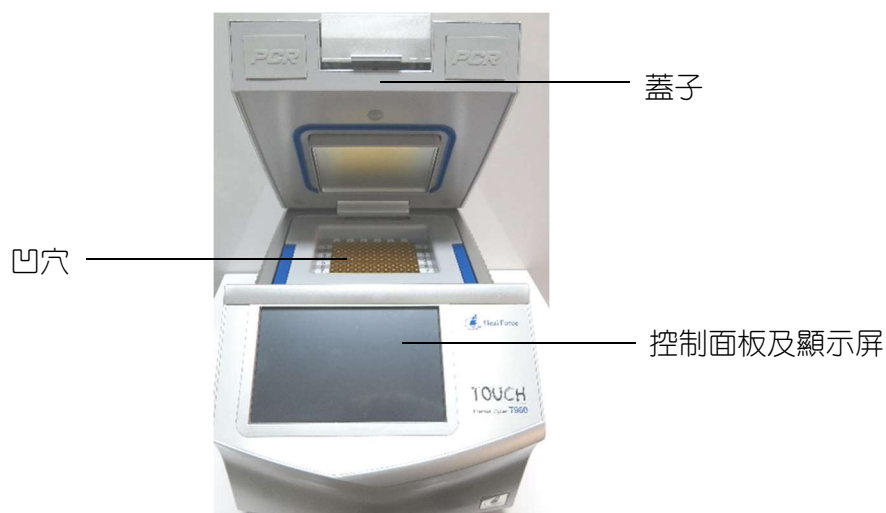
觀察窗的橙色濾鏡能在藍光照射下，濾出並展示凝膠中的 SYBR 染色劑與 DNA 結合的螢光綠色



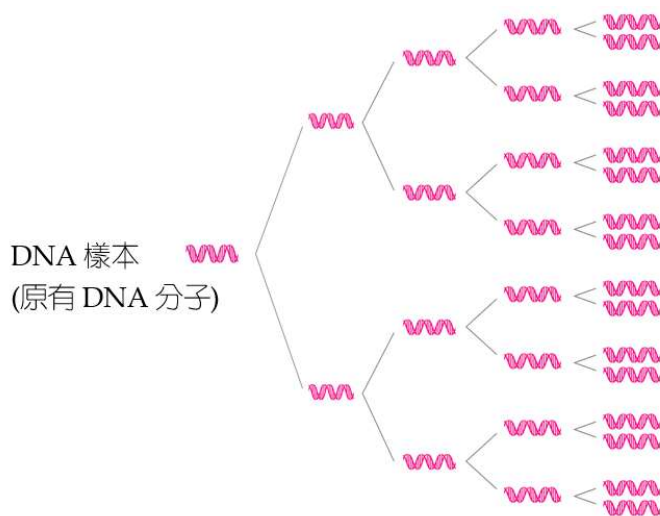
(d) 聚合酶鏈反應器

功用：利用變溫循環程式擴增 DNA

聚合酶鏈反應器利用變溫循環程式，透過控制溫度，以進行聚合酶鏈反應 (PCR)




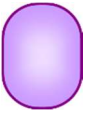


聚合酶鏈反應 (PCR) 與 DNA 複製過程相似，以重複過程進行多次的反應循環 (每次循環把 DNA 分子數目增加一倍)



反應循環數目	1	2	3	4	
DNA 分子數目	1	2	4	8	16

(i) 完成下表，寫出聚合酶鏈反應的材料及其功用：

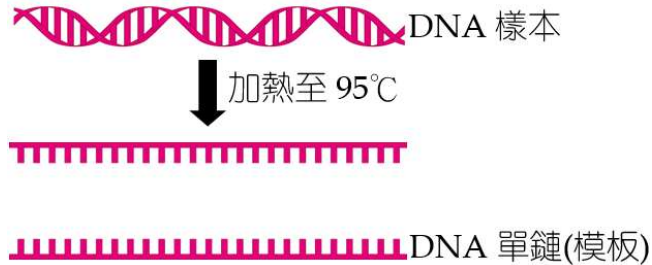
材料	 DNA 樣本	 游離核苷酸	 引物	 耐熱 DNA 聚合酶
功用	需要複製的 DNA	新 DNA 鏈的材料	作為合成新 DNA 鏈的起點	催化合成新 DNA 鏈

- (ii) 原理： 聚合酶鏈反應由三個部分組成 1 個循環  
每個循環重複約 30 - 40 次，以複製大量 DNA

聚合酶鏈反應的三個部分：

1. DNA 雙螺旋解開成單鏈 DNA (95°C)

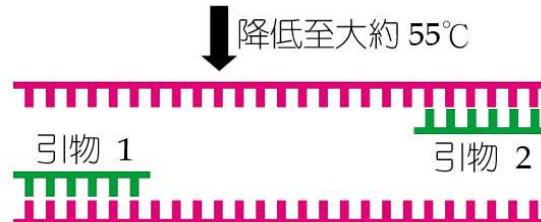
聚合酶鏈反應的材料(混合物)加熱，使 DNA 雙螺旋(樣本)解開成單鏈 DNA(模板)



2. 引物與單鏈 DNA 結合 (55°C)

引物是一小段人工合成的單鏈 DNA，作為合成新 DNA 鏈的起點

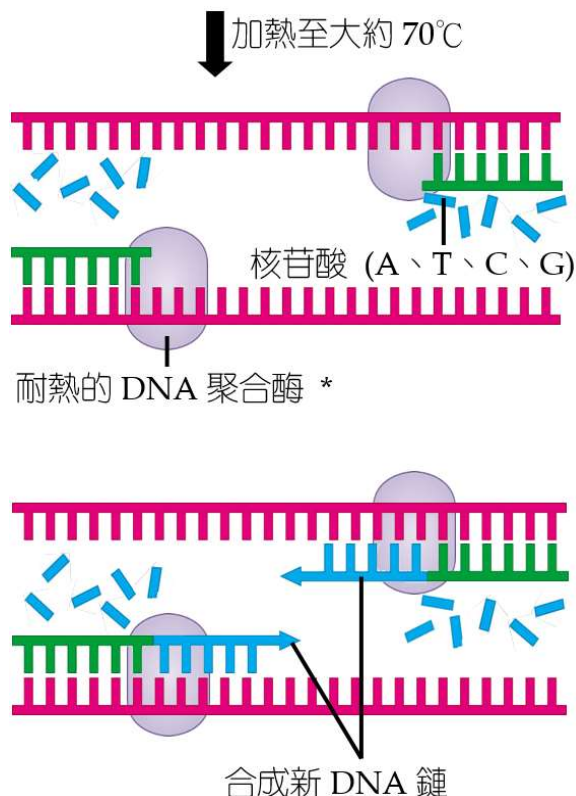
引物分別與單鏈 DNA 結合，以便同時合成新的 DNA 鏈



3. 合成新 DNA 鏈 (72°C)

混合物溫度提升至耐熱 DNA 聚合酶的最適溫度

在 DNA 聚合酶的催化下，游離核苷酸從單鏈 DNA(模板)上的引物開始，以互補形式一個一個接上去，合成新 DNA 鏈



(iii) 使用聚合酶鏈反應器的步驟：

1. 開啓電源 (圖 1)，以便聚合酶鏈反應器加熱至穩定溫度

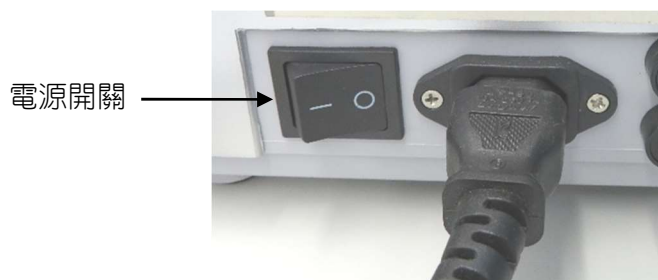


圖 1

2. 準備新的 PCR 管 (圖 2)，在管的蓋上適當標示
3. 使用微量加液器，把聚合酶鏈反應的材料(混合物)注入 PCR 管內 (圖 3)

聚合酶鏈反應的材料(混合物)	體積 (μl)
無菌水	14.8
5X 緩衝液	5.0
25mM 氯化鎂	1.5
5mM 脫氧核糖核苷三磷酸混合物 (含游離核苷酸)	1.0
耐熱 DNA 聚合酶	0.2
10μM 正向引物	1.0
10μM 反向引物	1.0
10μM DNA 模板	0.5
總體積	25.0

4. 蓋好 PCR 管，對稱地放在微離心機上 (圖 4)
5. 開啓微離心機電源及蓋上微離心機的蓋子，以離心力混和每支 PCR 管內的溶液 (圖 5)

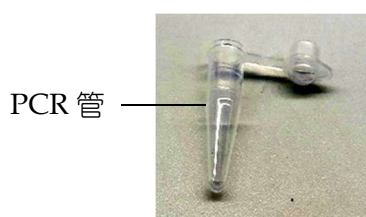


圖 2



圖 3



圖 4

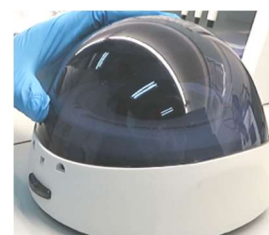


圖 5

6. 拉起聚合酶鏈反應器的蓋子手柄 (圖 6)，以打開蓋子
7. 從微離心機取出已混和溶液的 PCR 管，分別放入聚合酶鏈反應器的凹穴內 (圖 7)



圖 6

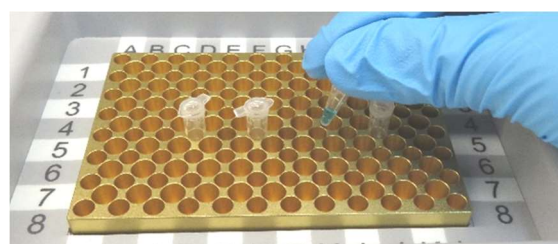


圖 7

8. 牢牢蓋上聚合酶鏈反應器的蓋子
9. 輕按控制面板上的**檔案圖案**，以開啓變溫循環程式選項目錄 (圖 8)
10. 輕按控制面板上的**“PCR Testing”選項**，以選擇變溫循環程式 (圖 9)
11. 輕按控制面板上**“RUN”選項**，以開始變溫循環程式 (圖 10)

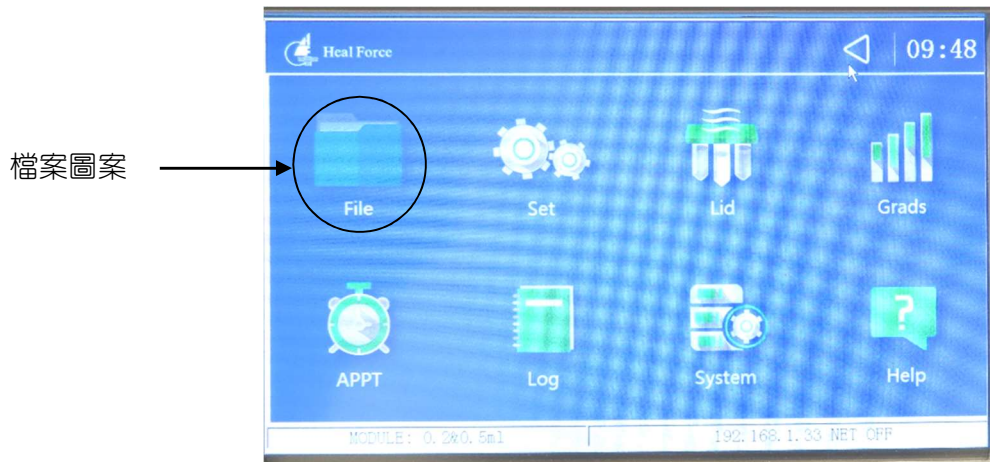


圖 8

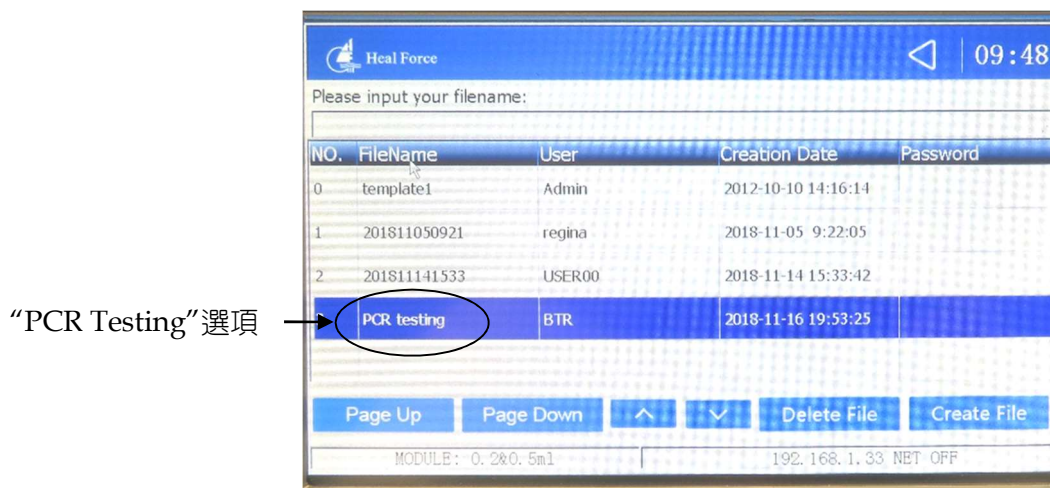


圖 9

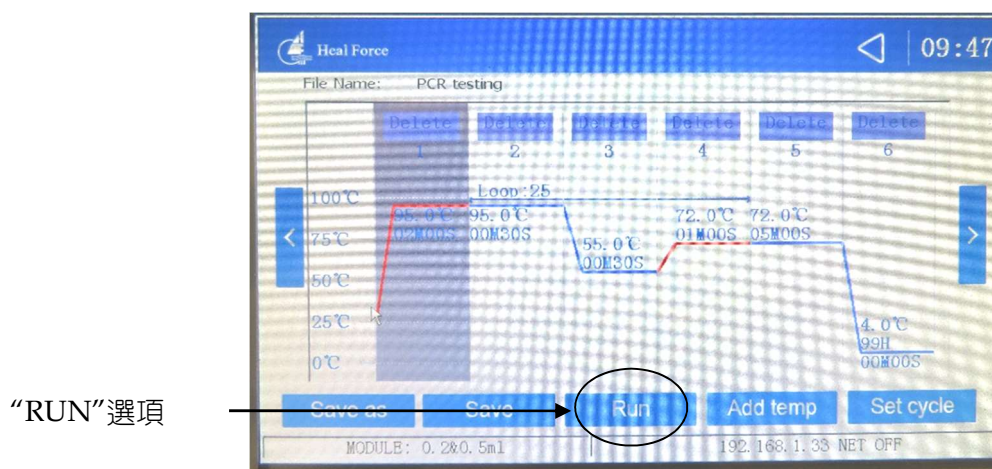


圖 10

12. 聚合酶鏈反應完成後，把 PCR 管取出並冷藏，以避免 PCR 生成物在室溫下降解



練習：

1. 完成下表，寫出聚合酶鏈反應各項材料的功用：

聚合酶鏈反應的材料(混合物)	功用
無菌水	-
5X 緩衝液	保持恆定 pH 值
25mM 氯化鎂	輔助 DNA 聚合酶
5mM 脫氧核糖核苷三磷酸混合物 (含游離核苷酸)	新 DNA 鏈的材料
耐熱 DNA 聚合酶	催化新 DNA 鏈的合成
10 $\mu$ M 正向引物	作為合成新 DNA 鏈的起點
10 $\mu$ M 反向引物	
10 $\mu$ M DNA 模板	需要複製的 DNA

2. 為什麼在聚合酶鏈反應中，使用耐熱的 DNA 聚合酶？

耐熱的 DNA 聚合酶在高溫下不易變性，可催化新 DNA 鏈的合成

3. 為什麼需要把 PCR 生成物冷藏？

避免 PCR 生成物在室溫下降解

4. 細閱以下文字並回答問題：

#### 耐熱的 DNA 聚合酶

起初，聚合酶鏈反應中使用的 DNA 聚合酶，在每次當溫度提升至 95°C 時，便會失去活性，以至每次新的循環時，都得再加入新的聚合酶。後來，一名科學家在研究溫泉生活的嗜熱菌時分離出特別的酶，名為 *Taq* DNA 聚合酶。*Taq* DNA 聚合酶在高溫中也不會失去活性。另一名科學家慕里斯把這種新的 DNA 聚合酶應用在聚合酶鏈反應技術上，並於 1993 年獲頒諾貝爾獎。

- (a) 為什麼在聚合酶鏈反應中，須先將溫度提升至 95°C？

使 DNA 雙螺旋解開成單鏈 DNA(模板)

- (b) 為什麼酶加熱到 95°C 會失去活性？

高溫令酶活性部位的形狀改變 / 變性，失去功用

- (c) 指出一項與 PCR 發展有關的科學本質。

科學知識會因新證據的出現而改變 / 科學發展需要多人合作 / 科學知識是根據對自然界所得的

觀察而推演出來的



(e) 組織培養櫥 功用：提供無菌環境進行實驗

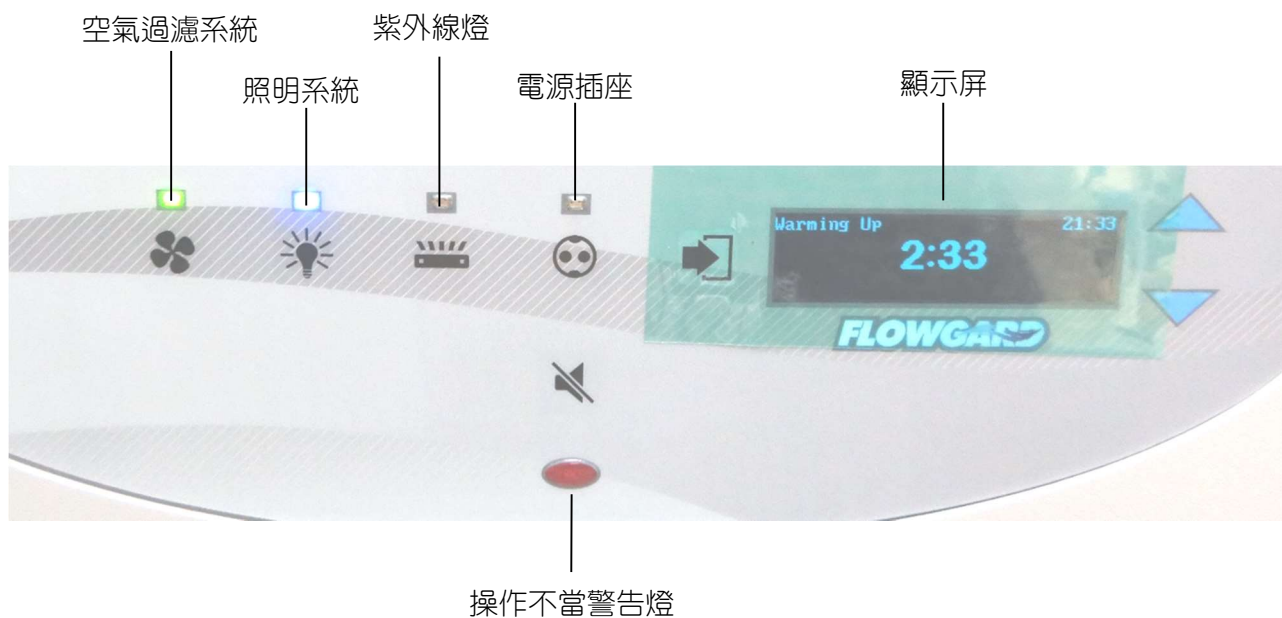
進入及離開組織培養櫥的空氣會被過濾，以去除污染物如微生物等，提供無菌環境進行實驗

可使用紫外線或 75%酒精拭抹組織培養櫥，以進行消毒，減少内部的污染物



(i) 控制面板

以下是控制面板的一些功能按鈕：



(ii) 使用組織培養櫥的步驟

1. **輕按**控制面板上的空氣過濾系統按鈕以開啓系統，把進入及離開組織培養櫥的空氣過濾
2. 雙手**同時緊握**左右兩邊的玻璃窗手柄（圖 1），向上拉動玻璃窗直至**到達玻璃窗水平標記**（圖 2），讓空氣進入並進行過濾
3. **確認**顯示屏正開始倒數計時，以待系統預備一個穩定而無菌的環境（圖 3）
4. **輕按**控制面板上的照明系統按鈕，以開啓電源
5. 使用 75%酒精噴灑及拭抹組織培養櫥內部，以去除附在內部的污染物（圖 4）
6. 使用 75%酒精噴灑及拭抹實驗器具，以去除實驗器具上的污染物
7. 當顯示屏結束倒數計時，便可使用組織培養櫥進行實驗
8. 實驗結束後，使用 75%酒精噴灑及拭抹組織培養櫥內部及清洗所有實驗器具
9. **慢慢**把玻璃窗拉下，以密封組織培養櫥
10. **輕按**控制面板上的照明系統按鈕，以關閉電源



圖 1



玻璃窗  
水平標記

圖 2

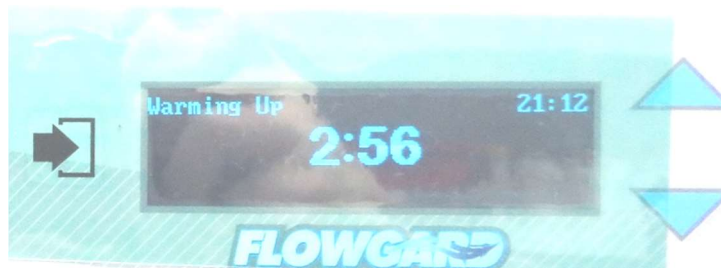


圖 3



圖 4

練習：

1. 下圖為一名科研人員，他正在進行生物科技實驗：



(a) 指出他所採用的一項無菌技術。

使用本生燈

(b) (i) 除了題(a)所採用的無菌技術外，寫出另外兩項的無菌技術。

使用酒精燈 / 紫外線燈 / 漂白水 / 高溫煮沸

(ii) 為什麼 75%酒精可作為消毒組織培養櫥之用？

75%酒精可破壞細胞膜，令細菌細胞及病毒蛋白質凝固或變性

2. 使用組織培養櫥進行實驗時，

(a) 為什麼把玻璃窗向上拉動至玻璃窗水平標記？

讓空氣進入並進行過濾

(b) 為什麼要留意操作不當警告燈有沒有亮起？

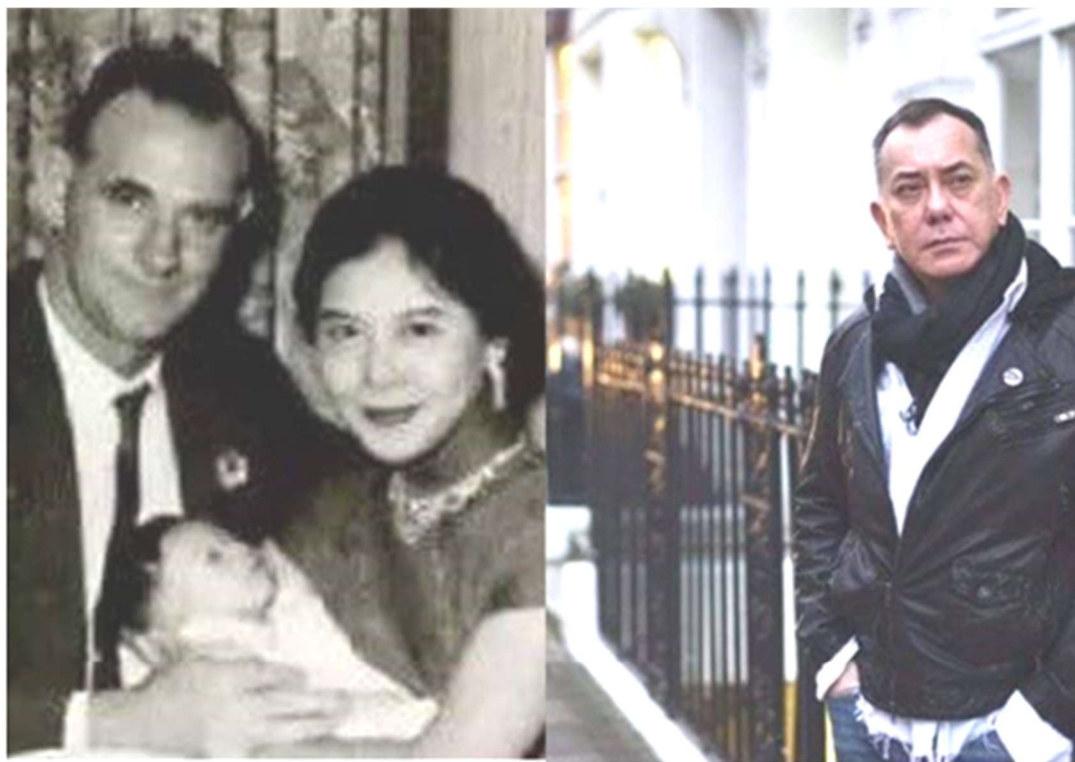
若操作不當，可引致實驗環境受微生物污染

## (B) 親子鑑證

臉書尋親寫下無數團聚故事，但需要有關人士的姓或名、或背景線索才能成功。

以下是其中一個成功例子：

### 56 歲港星黃秋生是中英混血兒，在臉書貼出黑白全家福，希望藉網路力量尋父



▲黃秋生臉書PO全家福，透過網路找尋父親。（圖／翻攝黃秋生Anthony Perry臉書）

根據蘋果日報報導，網友看到黃秋生臉書後，也在「Hong Kong in the '60s」臉書社團發起為他尋親，結果有熱心網友貼出一張澳洲入境單，一名就叫Frederick William Perry的英國人在1966年4月7日入境，已婚，入境目的是「回到澳洲生活」。

黃秋生近日接受BBC訪問，也讓他的身世再受矚目，原來他的爸爸Frederick William Perry是英國殖民時代香港高級公務員，在他4歲時遺棄老婆孩子離去。他臉書寫到關於父親的出生年月日，還有家庭成員提供給網友，尋求大家的幫忙。

沒想到這場尋親之旅讓他找到失聯已久的父親，更意外的是，他還有有3位同父異母的兄妹，真的讓他又驚又喜。黃秋生向香港《蘋果》表達感謝網友熱心協尋，也感嘆若父親還在世已103歲，可能已經逝世。

資料來源：蘋果日報

港星黃秋生在臉書貼了什麼資料，以成功尋父？

父親的姓名、出生年月日、其他家庭成員、黑白全家福

但.....如果孩子自出生後即被領養，只能尋獲生母，但生母卻不知道誰是孩子生父呢？這樣還能成功尋親嗎？



美國一名女子，自出生後即被領養，單憑自己 DNA 及鍥而不捨地在臉書追蹤，終尋獲生父。

加州素食網站創辦人 Michelle Cehn (31 歲)，生於美滿家庭，領養父母分別是語言病理學家及核子科學家，Michelle 知悉被領養後便展開尋親之旅。在領養父母協助下，於 09 年尋獲生母 Diane，可惜生母不知誰是其生父，因 Diane 於 23 歲時意外懷孕及無力撫養，產後即棄養 Michelle。

生母不知誰是其生父，只在臉書尋親，形同拼圖缺了最重要一塊，人海茫茫，父在何方？慶幸除了臉書外，還有 DNA 資料庫 (23andme.com)、族譜網 (Ancestry.com) 及尋親網。Michelle 將自己 DNA 交給 DNA 資料庫作對比。相關網站追尋到數以千計可能與她有血緣的陌生人，經過 10 年時間，直到聯絡住在加州的 Greg Hicks (57 歲) 時，發現 Michelle 一半 DNA 與 Greg 相同；另外，在臉書內得知 Greg 與 Diane 有數名共同朋友，確認 Greg 是 Michelle 生父。DNA + 臉書，為 10 年尋父畫上完美句號。



資料來源：AM730

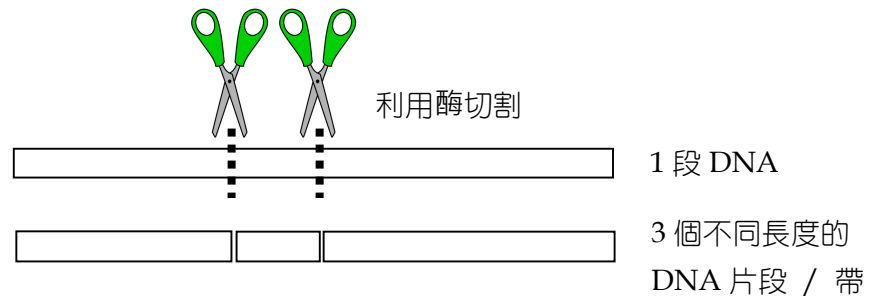
1. 為什麼 Michelle 單靠臉書尋親，形同拼圖缺了最重要一塊，不能成功尋找生父？  
因為 Michelle / Diane 不知道生父是誰 / 姓名
2. Michelle 不能單靠臉書尋親，為何最終也能尋找生父？  
Michelle 將自己 DNA 交給 DNA 資料庫作對比，發現一半 DNA 與 Greg 相同
3. DNA 資料庫儲存 DNA 指紋，DNA 指紋分析可協助尋親。根據你的生物科技知識，
  - (a) 與 DNA 資料庫作對比，Michelle 一半 DNA 與生父 Greg 相同，另一半與誰相同？  
生母 Diane
  - (b) 試解釋為甚麼 DNA 指紋分析能提供強而有力的證據，證明 Greg 是 Michelle 生父？  
DNA 不會改變 / 各人 DNA 都是獨一無二 / 測試結果十分可靠 / 高變異區域遺傳自父母
  - (c) (i) 寫出用來製作 DNA 指紋的技術名稱。  
凝膠電泳  
(ii) 參考第三頁的資料，寫出需使用科研室內哪些儀器和設備，以進行題(c)(i)的實驗？  
微量加液器、凝膠電泳套件、微離心機、凝膠電泳成像儀



## (I) DNA 指紋分析：

人類有 99.9% DNA 鹼基序列是相同的。0.1% DNA 鹼基序列的差異反映個體間的遺傳變異；基於個體間鹼基序列差異，科學家可透過 DNA 指紋分析的技術，鑑定個人身份

按 DNA 鹼基序列，利用酶把 DNA 切割成不同長度的片段 / 帶：



## (II) 實驗：

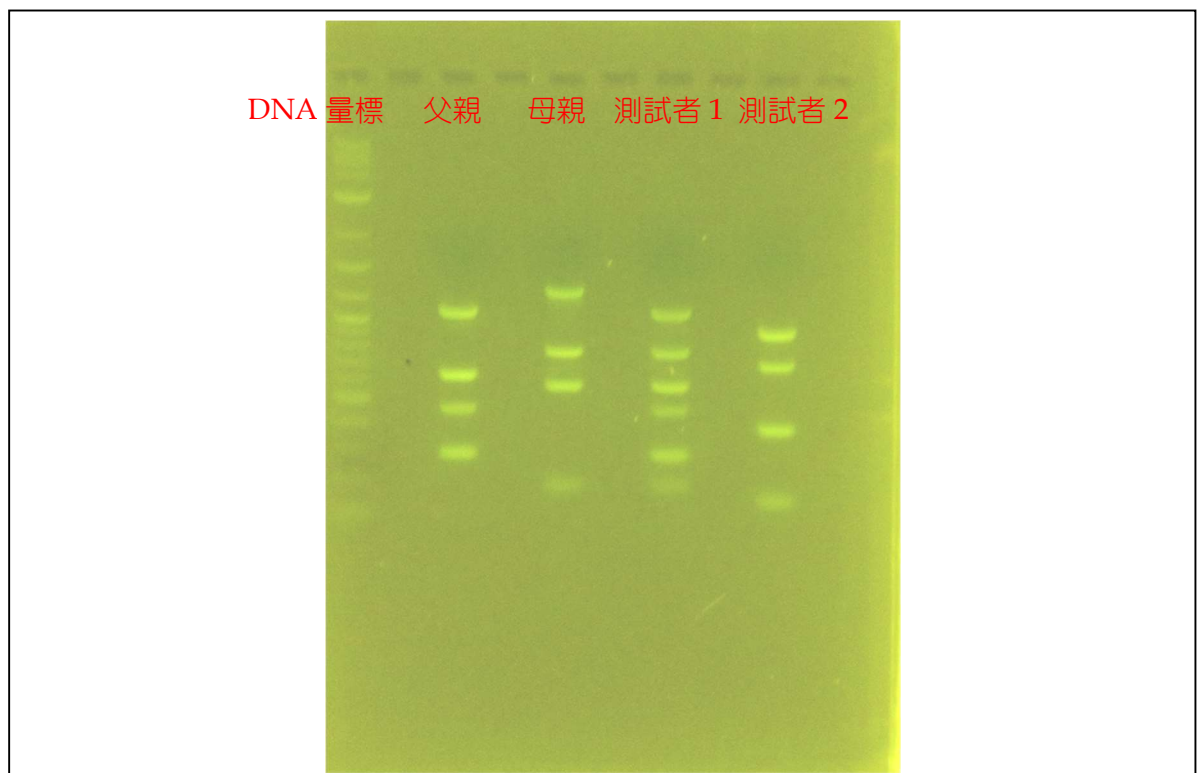
生物科技研習室利用聚合酶鏈反應器，擴增了四個 DNA 樣本  
試應用你已學的知識，進行 DNA 指紋分析，找出親生孩子

### (i) 進行 DNA 指紋分析

1. 製作 2% 瓊脂糖凝膠 (參考 p.9)
2. 加載 DNA 量標及四個 DNA 樣本： 父親、母親、測試者 1、測試者 2 (參考 p.10)
3. 進行凝膠電泳以分離 DNA

### (ii) 結果

利用凝膠電泳成像儀拍攝照片 (參考 p.12)，貼在以下空白處，標示各 DNA 片段



練習：

1. 根據實驗後凝膠電泳成像儀拍攝的照片，

(a) 哪個測試者是親生孩子？為什麼？

測試者 1

因為他有 3 條 DNA 片段 / 帶來自父親，3 條 DNA 片段 / 帶來自母親

(b) 哪個測試者不是親生孩子？為什麼？

測試者 2

因為他所有 DNA 片段 / 帶與父親或母親不相同

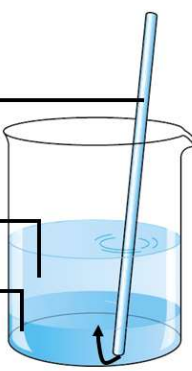
2. DNA 量標有甚麼功用？

DNA 量標含已知長度線狀片段，透過比較 DNA 量標及 DNA 片段位置，可估計 DNA 片段大小

實驗活動 (2)：

## 提取 DNA

提取士多啤梨 DNA：

步驟	備註
1. 將一瓶消毒用酒精 (70-95%) 放進冰箱內，等待實驗後期使用	➤ 冰凍酒精減慢 <b>酶</b> 分解 DNA 的反應
2. 將水果(例如士多啤梨)莖葉去除，放入研鉢內，利用研杵把其壓碎；或放入保鮮袋內，封上袋口，用手把其壓碎	➤ 破壞水果細胞的細胞 <b>壁</b>
3. 分別利用量筒量度 10 毫升水、電子天平量度 1 克鹽；並將 1 茶匙洗潔精及壓碎的水果汁液倒入小燒杯，以玻璃棒攪拌至完全混和後浸泡約 2 分鐘	➤ 鹽 / 氯化鈉的鈉離子 <b>中和</b> DNA 部分的負電荷，使 DNA <b>聚在一起</b> ➤ 洗潔精分解 <b>細胞膜</b> 和 <b>核膜</b> ，使細胞內的物質釋放出來
4. 把過濾器放在大燒杯上，利用過濾器把步驟 3 的液體過濾	-
5. 利用茶匙輕按過濾器上的水果殘渣，以盡量過濾更多液體	-
6. 利用量筒量度 20 毫升預先冷凍的酒精，並透過玻璃棒引導酒精慢慢流入經過濾的液體中，使其在液體表面形成透明層	-
7. 把大燒杯放到視線高度進行觀察，一層白色物質正逐漸在透明層形成，這就是 DNA	➤ 細胞內的其他物質在 <b>下</b> 層 / 溶於酒精 ➤ DNA <b>不溶</b> 於酒精，被酒精層沉澱出來
8. 把玻璃棒放入透明層中並非常緩慢地轉動，DNA 會黏附在玻璃棒上，你也可以用手觸摸看得見的 DNA	-
<div style="text-align: center;">  <p>玻璃棒</p> <p>冰冷的酒精</p> <p>含有 DNA 的無色液體</p> </div>	
提取出來的 DNA 呈 <b>白</b> 色，帶有雜質	

練習：

1. 在提取 DNA 過程中，
  - (a) 加入鹽有什麼作用？  
鹽 / 氯化鈉的鈉離子中和 DNA 部分的負電荷，使 DNA 聚在一起
  - (b) 加入洗潔精有什麼作用？  
洗潔精分解細胞膜和核膜，使細胞內的物質釋放出來
2. 在含有 DNA 的液體內加入冰凍酒精有什麼作用？  
細胞內的其他物質在下層 / 溶於酒精  
DNA 不溶於酒精，被酒精層沉澱出來
3. 純淨 DNA 是無色的，為什麼提取出來的 DNA 可用肉眼看見？  
提取出來的 DNA 含有雜質，如蛋白質，可用肉眼看見
4. 怎樣增加 DNA 提取量？  
加長(士多啤梨)組織、洗潔精和鹽的混合物浸泡時間，使更多 DNA 釋放出來
5. 試舉出兩項從活組織提取出來的 DNA 的實際用途。  
研究個別基因功能 / 診斷遺傳疾病 / 進行 DNA 指紋分析 / 克隆生物 / 製造基因改造生物  
(任何兩項)