

生物科技課程 - 物種辨識 (包含選修部份)
DNA 提取、凝膠電泳和多線染色體的觀察

學校名稱/組	
學生姓名	

DNA 指紋圖譜分析

去氧核糖核酸(DNA)是一種生物大分子，可組成遺傳指令，引導生物發育與生命機能運作。主要功能是資訊儲存，可比喻為「藍圖」用作蛋白質的製造。在哺乳動物當中，大部份 DNA 都並非用作合成蛋白質的藍圖，但其不同的排列方式卻造就出不同的物種及即使同一物種，生物體之間亦存在一定程度的差異。我們更可根據基因圖譜的檢測去分別不同的生物體。現今世代基因檢測多用於遺傳病的研究，例如準備懷孕前父母的基因檢測，以提早避免有致命遺傳病的嬰兒誕生，其次是生物鑑證，以處理生物遺骸及鑑定死者身分協助警方追查。現時案發現場的蒐證都需要生物科技的應用，受害人及嫌疑犯的確認都會用上生物科技進行分析，以準確鑑定罪犯及協助調查風化案件。

儀器與物料

250 毫升 錐形瓶	X1
冷卻水浴	X1
電子溫度計	X1
電子天平	共用
電泳槽及有關儀器	X1 套
微波爐	共用
微波爐保鮮紙	共用
即棄手套	X1 對
移液管及吸咀	X1 套

化學品

凝膠	共用
TAE 緩衝劑 (1X)	50毫升

凝膠電泳

程序

製作凝膠 (1.5% , 7 厘米 x 10 厘米)

1. 把 250ml 錐形瓶放上電子天平並調整重量至零.
2. 移送 0.75g 凝膠到錐形瓶
3. 移送 50ml 1x TAE 緩衝劑到錐形瓶
4. 用微波爐保鮮紙包好錐形瓶並在保鮮紙上刺上小孔
5. 用微波爐加熱至凝膠完全融解 (溶液應當呈清澈透明)
6. 利用冷水浴把凝膠溶液冷卻至 55°C .
7. 移送 5 μ l DNA 螢光染劑 (由老師完成)
8. 移送已降溫的凝膠到電泳床並放置好膠梳
9. 讓凝膠冷卻並完全凝固，需時約 20 分鐘
10. 慢慢垂直拉起膠梳，小心避免破壞放置 DNA 樣本的載穴



移送 DNA 樣本及進行電泳

1. 移送 20 μ l DNA 樣本進入載穴.
2. 當所有 DNA 樣本已處理妥當，電泳槽便可接上直流電源，開始進行凝膠電泳
3. 檢查電流能順利流通，同學能留意白金電極位置應有細氣泡冒出，進行凝膠電泳的時間老師會因應流程快慢而有所調整，DNA 樣本移動距離太短或過遠甚至離開凝膠均不適合。
4. 當凝膠電泳過程完成，暴露凝膠在紫外光下觀察 DNA 片段

結果

每個載穴中 DNA 產物的片段大小是多少？

載穴	片段 1 大小	片段 2 大小	片段 3 大小
A			
B			
C			
D			
E			

討論

背景：

DNA 樣本是從以下生物中提取：

轉基因木瓜；非轉基因木瓜；蚯蚓；千足蟲

使用 3 對不同的引物擴增提取 DNA

- 1) 木瓜蛋白酶
- 2) 木瓜輪點病毒鞘蛋白
- 3) 線粒體中細胞色素氧化次單位 1 (CO1)

通過聚合酶鍊式反應 (PCR) 擴增相應基因

1. PCR 反應混合物的成分是什麼？
2. 每個片段代表什麼？
3. 你能區分所有的樣本嗎？他們是什麼？
4. 結果中是否缺少任何預期的片段？可能的原因有哪些？

從生果中提取去氧核糖核酸 (DNA)

儀器與物料

1 毫升 針筒	X1
5 毫升 針筒	X1
100 毫升 燒杯	X1
紗布 / 濾紙	X1
過濾漏斗	X1
研钵及杵	X1
生果樣本	
試管及試管架	X1
木條	X1

化學品

提取溶液	10 毫升
1 份 清潔劑	
9 份 蒸餾水	
1.5克 氯化鈉	

程序

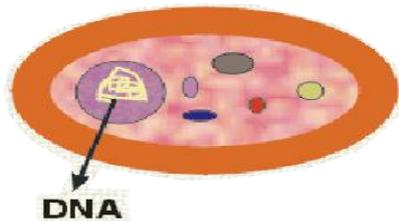
提取生果 DNA (實驗進行中請同學小心，配戴護目鏡).

1. 利用研钵及杵將生果搗爛，過程約 **2 分鐘**.
2. 把 **10ml DNA** 提取溶液加入已完全搗爛的生果中
3. 再搗爛生果及讓溶液混和約 **1 分鐘**.
4. 裝置過濾用的儀器，把混合物傾進過濾裝置，收集濾液於 **100ml** 燒杯
5. 把 **2ml** 濾液轉移至試管中
6. 沿試管壁慢慢加入 **4ml (2X 濾液的份量)** 凍酒精 (切勿混和這兩層液體)
7. 觀察及記錄在酒精層中出現的變化

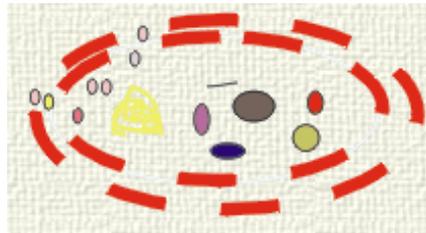
提示

DNA 會在酒精和草莓提取液層相接的位置出現，如希望提取更多 DNA 可輕搖試管，DNA 最後會浮到酒精上層

實驗原理



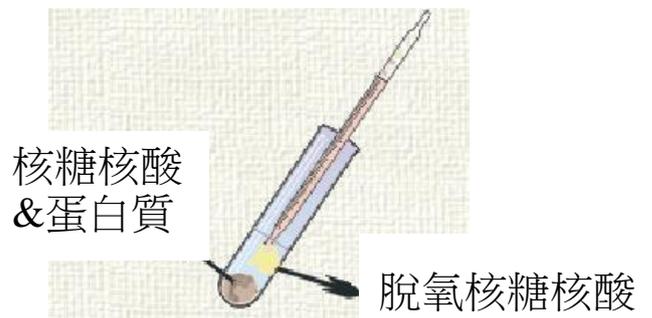
1. DNA 主要會在細胞核中找到



2. 細胞膜結構被清潔劑破壞



3. 凍酒精加到生果混合物中 DNA 會出現於酒精層



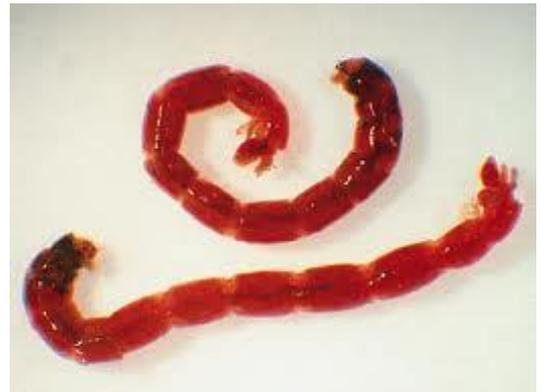
4. 可用木條把 DNA 轉移到顯微鏡下觀察

討論

1. 提取溶液中的氯化鈉及清潔劑有何用途？
2. 酒精有何作用？為什麼需要先把酒精冷凍？
3. 冷凍的生果與未經冷凍的生果能提取的 DNA 量有沒有分別？為什麼？
4. 為何會常用草莓或奇異果作提取 DNA 實驗的生果？
5. 為什麼不同生果的 DNA 提取量各有不同？
6. 如何增加 DNA 的提取量？試解釋原因？
7. 以上實驗提取得到除了 DNA 外還可能有什麼物質？

觀察搖蚊幼蟲多線染色體

多線染色體是一種纜狀的巨大染色體，見於有些生物生命周期的某些階段里的某些細胞中。由核內有絲分裂產生的多股染色單體平行排列而成。核內 DNA 多次複製產生的子染色體平行排列，且體細胞內同源染色體配對，緊密結合在一起，從而阻止了染色體纖維進一步聚縮，形成體積很大的由多條染色體組成的結構叫多線染色體。多線化的細胞處於永久間期，體積也相應增大，它存在於雙翅目昆蟲的幼蟲組織內，如唾液腺、氣管等。



儀器與物料

搖蚊幼蟲	X1 包
鑷子	X2
濾紙	X 數張
載玻片	X3
蓋玻片	X3
立體顯微鏡	X1
顯微鏡	X1

化學品

醋酸苔紅素	共用
生理鹽水	共用

1. 在載玻片上滴 2-3 滴生理鹽水。
2. 用鑷子從培養瓶中取出幼蟲，放在滴有生理鹽水的載玻片上。
3. 把載有幼蟲生理鹽水的載玻片放在立體顯微鏡的載物台上。
4. 放一對鑷子在幼蟲中部，另一對放在前端，靠近嘴的黑色部位。
5. 一對鑷子固定幼蟲，把在頭部的鑷子往外拉。
6. 唾腺是透明的。不透明的脂肪通常在腺體旁，用鑷子移去它。
7. 用濾紙把生理鹽水吸乾。
8. 滴 2-3 滴染色劑。
9. 蓋上蓋玻片。
10. 壓下蓋玻片。

討論

1. 多線染色體在搖蚊幼蟲唾腺有出現有甚麼好處？
2. 多倍體和多線性有甚麼異同？