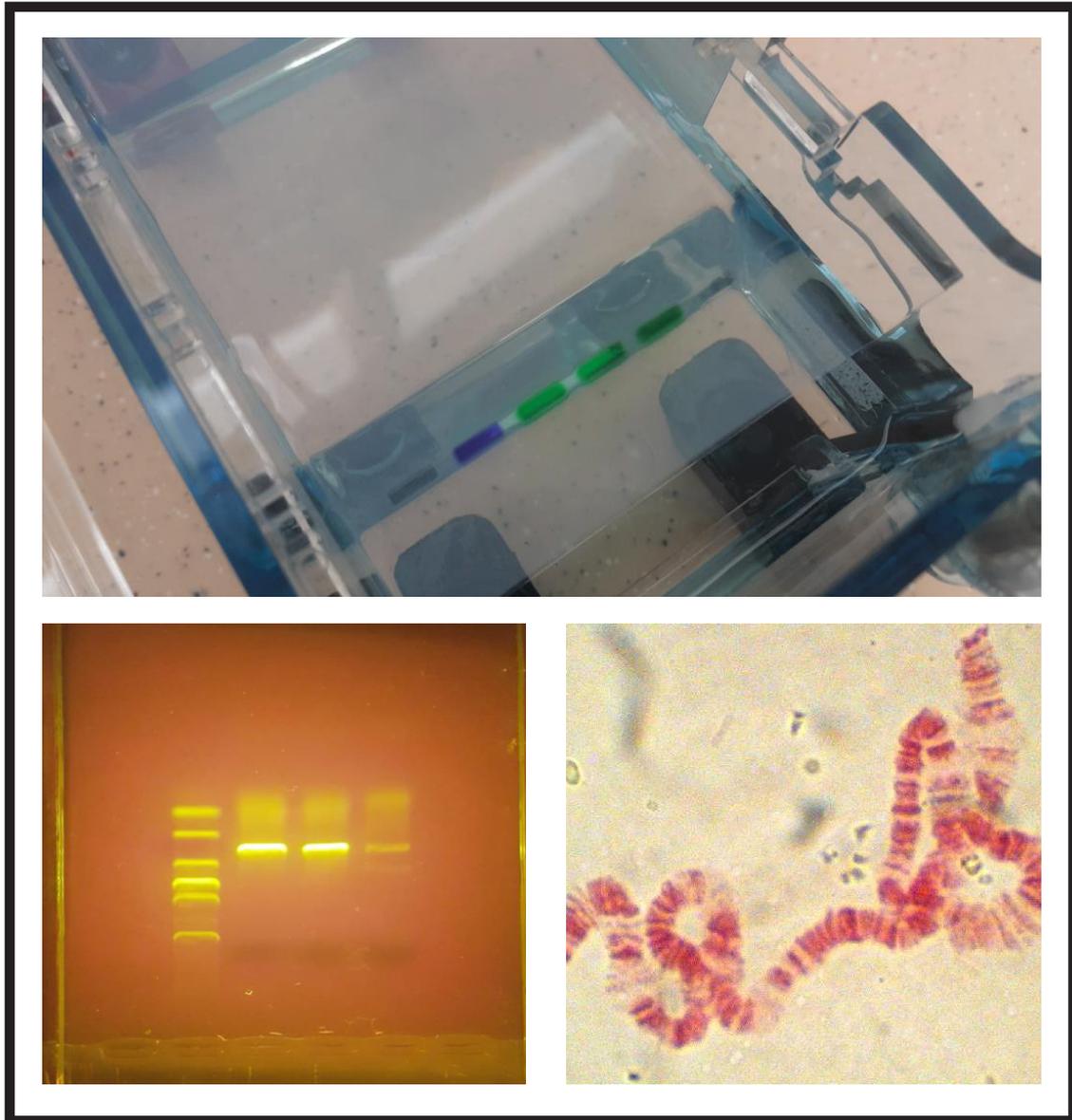


## 親子鑒定（必修部份） DNA 提取、凝膠電泳和多線染色體的觀察



## 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證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.....	1
冷卻水浴 .....	1
電子溫度計.....	1
電子天平 .....	共用
電泳槽及有關儀器.....	1 套
微波爐.....	共用
微波爐保鮮紙.....	共用
即棄手套 .....	1 對
移液管及吸咀.....	1 套

### 化學品

凝膠 .....	共用
TAE 緩衝劑 (劑 1X) .....	50 毫升

## 程序

### 製作凝膠 (1.5% , 7 厘米 x10 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. 加入 5  $\mu$ 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 25 $\mu$ l DNA 樣本 A-E 進入載穴。DNA 樣本的成分如下：
  - A. DNA 分子量標準物
  - B. 孩子 DNA 樣本 (經 PCR\* 過程倍化)
  - C. 母親 DNA 樣本 (經 PCR 過程倍化)
  - D. 1 號男性 DNA 樣本 (經 PCR 過程倍化)
  - E. 2 號男性 DNA 樣本 (經 PCR 過程倍化)
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

## 從生果中提取去氧核糖核酸 (DNA)

### 儀器與物料

21 毫升 針筒 .....	1
5 毫升 針筒 .....	1
100 毫升 燒杯紗布 / 濾紙.....	1
過濾漏斗 .....	1
研砵及杵 .....	1
生果樣本	
試管及試管架 .....	1
木條 .....	1

### 化學品

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

### 程序

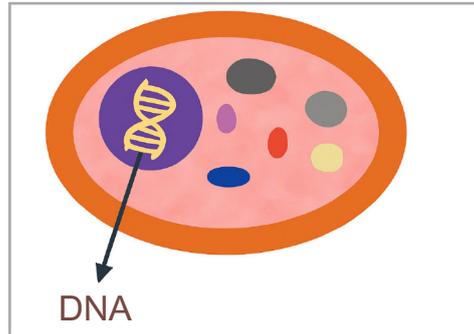
#### 提取生果 DNA (實驗進行中請同學小心，配戴護目鏡)

1. 利用研砵及杵將生果搗爛，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。

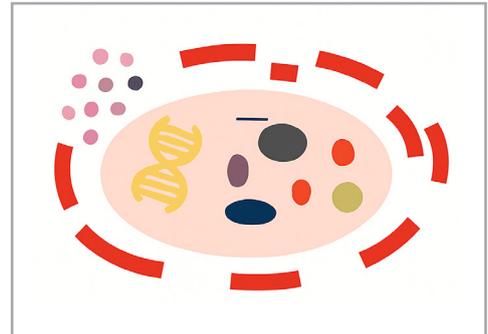
### 提示

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。

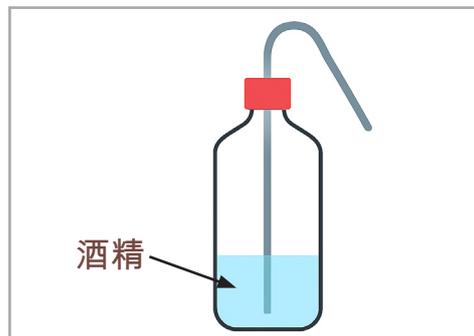
## 實驗原理



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



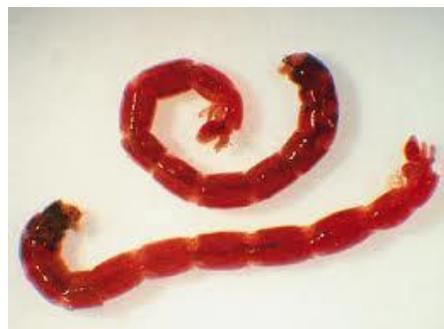
④ 可用木條把 DNA 轉移到顯微鏡下觀察

## 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 .....	1 包
鑷子 .....	2
濾紙 .....	數張
載玻片 .....	3
蓋玻片 .....	3
立體顯微鏡 .....	1
顯微鏡 .....	1

### 化學品

醋酸苯紅素 .....	共有
生理鹽水 .....	共有

### 程序

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？