

考生編號_____

分數_____

2014 年國際生物奧林匹亞國手選拔營實作試題

第 4 試場 實作 B

※ 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。

實驗器材與試劑：

試劑與實驗材料	數量
已秤重 200 mg 之水稻葉片 A: Control B: 經 150 mM NaCl 處理 48 h	各一份
0.3 mM 硫酸 (pH=3)	10 ml
Solution A 酚 (phenol) 及亞硝醯鐵氰 (nitroprusside)	2 ml
Solution B 次氯酸鹽 (Hypochlorite)	2 ml
器材	數量
微量分注器 (P200)	1 支
微量分注器 (P1000)	1 支
微量吸管尖 (Tips) (20~200 μ L)	1 盒
微量吸管尖 (Tips) (1000 μ L)	1 盒
1.5 mL 微量離心管	6 支
微量離心管浮船	1 個
微量離心管防爆夾	6 支
15 mL 螺旋蓋離心管	4 支
微量離心管架	1 個
研鉢	2 套
比色管	6 支
油性筆	1 支
膠水	1 瓶
計時器	1 個
公用器材	數量
離心機	2 台
水浴槽	5 台
分光光度計	5 台

※ 請注意：

1. 桌上的材料及器材用完後，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. 本試卷含實作 A 及實作 B，作答時間共為 80 分鐘
4. 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。

一、實驗背景介紹

氮、磷、鉀為植物生長所需之三大元素，而其中氮主要負責細胞的氨基酸及蛋白質合成所必需，銨離子(ammonium, NH_4^+) 則是主要的氮元素來源。在現代農業中氮肥之補給相當重要，但種植者亦會發現在土壤中施肥過量的氮肥將會造成植物生長受抑制，最近亦有人發現，即使從植物葉片施用氮亦可造成植物根部生長受抑制。近年來台灣有一些研究人員發現植物在遭遇重金屬汙染逆境時會邀發植株之氮含量提高，並且造成植物提早老化。由於台灣在進入工業化後，環境中充斥各種汙染，許多人民的糧食生產地均遭逢重金屬汙染，因此台灣在地研究人員對此植物體內銨離子為何會被環境壓力所誘發產生相當大的興趣。

二、實驗原理

含有氮之樣品加入次氯酸鹽 (Hypochlorite) 及酚溶液反應，生成靛藍色之靛酚 (Indophenol)，此溶液之顏色於亞硝鐵氰化鈉溶液 (Sodium nitroprusside) 之催化後會更加強烈。使用分光光度計於波長 625 nm 處進行比色分析，即可求得樣品中氮之濃度。使用光徑 1 cm 樣品槽偵測，其極限約 0.01 mg/L。

三、實驗步驟

1. 將已秤重之葉片(A, B)。
2. 分別放入研鉢中，加入 3 ml 0.3 mM 硫酸以充分研磨(成黏稠液態狀)後移入 15 mL 螺旋蓋離心管內(請標示清楚)。【*注意⇒水稻葉片充分研磨與否，是本實驗的重要關鍵。】
3. 以 3500 rpm 離心 6 分鐘，將上清液移到新的 15 mL 螺旋蓋離心管內(請標示)。
4. 分別取 100 μ l 離心後上清液放入 1.5 mL 微量離心管(請標示)並在加入 900 μ l 0.3 mM 硫酸，蓋緊蓋子後上下搖晃三次。
5. 再加入 125 μ l solution A 充分混合(蓋緊蓋子後上下搖晃)後再加入 125 μ l solution B 充分混合。⇒離心後(A, B)上清液樣品重複步驟 4,5(三管)。
6. 將所有樣品套上防爆夾放入微量離心管浮船，舉手請助教帶到公用水浴槽處，置入 37°C 水浴 20 分鐘。
7. 水浴反應結束後將樣品移入比色管，請至分配之分光光度計以 625 nm 波長測吸光值。請列印比色之吸光值並貼於問題 1。

三、問題

1. 測量水稻葉片在(A)蒸餾水溶液處理 3 天及在 (B) 150 mM NaCl 處理 3 天之後之銨離子含量的變化。就你的實驗結果，(A) (B) 水稻葉片研磨液的銨離子濃度是否有差異並說明理由? 銨離子含量=吸光值*稀釋倍數/重量(g)

樣品	吸光值	銨離子含量 ($\mu\text{mole/g}$)
葉片 (A)-1		
葉片 (A)-2		
葉片 (A)-3		
葉片 (B)-1		
葉片 (B)-2		
葉片 (B)-3		

吸光值結果黏貼處

2. 台灣大學教授研究發現水稻葉片處理 ABA 可刺激 H_2O_2 之產生，同時會誘發銨離子之累積，請設計一實驗探討 ABA 誘發之銨離子累積之現象是否與 H_2O_2 之產生所造成。

3. 兩個氨基酸進行聚合之過程時，下列何種反應會發生？

- (A) 脫去一分子的水
- (B) 脫去一分子的二氧化碳
- (C) 添加一個氮原子
- (D) 添加一分子的水
- (E) B 和 C 皆有

Ans: _____

4. 常見二十種不同的氨基酸，其彼此間結構之差異為何？

- (A) 連接 alpha 碳的羧基結構不同
- (B) 連接 alpha 碳的氨基結構不同
- (C) 連接 alpha 碳的側鏈(R 基)結構不同
- (D) alpha 碳結構不同
- (E) 不對稱碳結構不同

Ans: _____

5. 英國劍橋大學的弗雷德里克·桑格 (Frederick Sanger) 在 1950 年代利用何種技術來了解胰島素的結構？

- (A) X 光(x-ray)晶體繞射圖譜
- (B) 生物資訊分析
- (C) 分析短片斷蛋白質之氨基酸序列
- (D) 核磁共振 (NMR) 圖譜分析
- (E) 超高速離心分析法

Ans: _____