

106 年特種考試地方政府公務人員考試試題

等 別：三等考試

類 科：衛生技術

科 目：生物技術學

一、請敘述下列分析技術的原理及舉例說明其可能的應用：

(一)毛細管電泳 (Capillary Electrophoresis ; CE) (10分)

(二)基質輔助雷射脫附游離飛行時間 (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight ; 簡稱MALDI-TOF) 質譜儀技術 (10分)

(三)脈衝場凝膠電泳 (Pulsed Field Gel Electrophoresis ; PFGE) (10分)

(四)限制性片段長度多態性 (Restriction fragment length polymorphism ; RFLP) (5分)

(五)巢式PCR (Nested PCR) (5分)

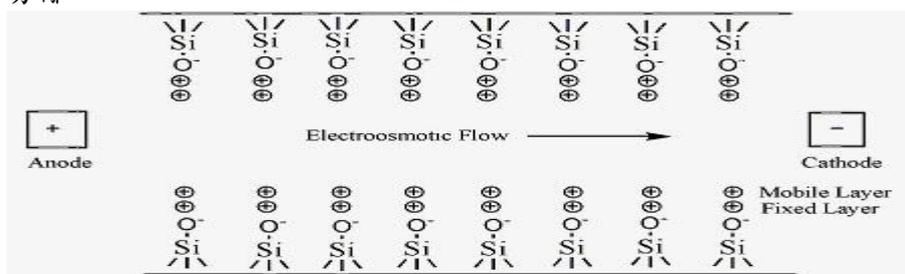
【擬答】

(一)毛細管電泳 (Capillary Electrophoresis ; CE)

毛細管電泳利用毛細管中被分析的帶電分子在電場作用下，因移動速率不同而達到分離不同分子的目的。在進行分析時將毛細管內充滿了電解液，毛細管兩端通高壓電，使電解液內帶電分子移到毛細管相反電荷的一端。因為不同分子的大小對電荷比不同，就以不同的速率在管中移動，達到毛細管終點也有快有慢。毛細管電泳既依此探測、分離不同分子。

CE 分離原理：

1. 準備一個表面帶負電的毛細管
2. 灌入緩衝液，只有帶正電的離子留下 (因毛細管帶負電)
3. 在毛細管兩端加上電場 (正負極)，帶正電緩衝液的正離子向負極移動，形成一股流速固定的電流 (電滲流，electro-osmotic flow, EOF)
4. 將蛋白質灌入，蛋白質有其電性，帶正電者會向負電方向泳動，反之相反，此法利用電泳 (electrophoresis) 的原理
5. 電滲流和電泳兩股力量的合力拉動著蛋白質
6. 帶越多正電荷的蛋白移動在越前端，帶越多負電的蛋白位於越後端，如此即可將蛋白質分離。



(二)基質輔助雷射脫附游離飛行時間(Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight ; 簡稱 MALDI-TOF)質譜儀技術

基質輔助雷射脫附游離法 (MALDI) 成功地偵測到蛋白質分子，開啟了質譜技術在蛋白質分析的新紀元。

(1)基質輔助雷射脫附游離法則由德國的 Hillenkamp 教授及日本的 Tanaka 先生分別於 1988 年提出，此種離子源主要是由雷射光源和金屬樣品盤所構成，將分析樣品和基質 (matrix) 混合後，將樣品與基質的混和液均勻點至金屬盤之樣品槽中，使其混合物在空氣中自然風乾，待溶劑揮發後，混合液會在金屬盤中形成樣品-基質的共結晶，再以雷射光束照射此固態樣品時，結晶中的基質會吸收雷射光的能量，產生質子並由樣品盤中脫附而出，此過程會同時將分析樣品脫附氣化，產生氣相離子，以進入質量分析器測量其 m/z 比值，進而推算其質量。由於基質所扮演的角色有吸收雷射能量及將樣品離子化的功能，因此，選擇基質時除了要配合雷射光源的波長外，還需要考慮樣品的特性。

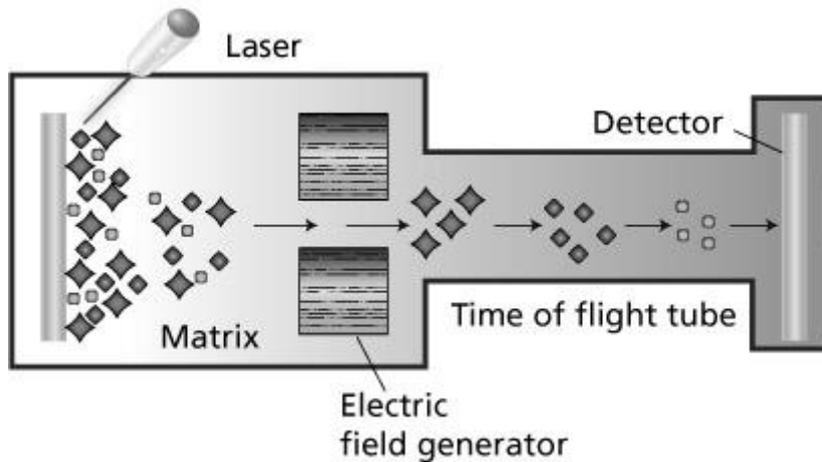
(2)飛行式時間質量分析器 (TOF analyzer)：飛行式時間質量分析器是由一飛行管構成，游

公職王歷屆試題 (106 地方特考)

離後，所有的離子經由相同的加速電壓進入飛行管，這些質量不同的離子會得到相同的電位能，電位能會再轉換成離子的動能，在無電場區中，質量重的離子飛行速度較小、質量輕的離子則有較大的飛行速度，到達偵測器時會有不同的飛行時間，從飛行時間可推算其質量。

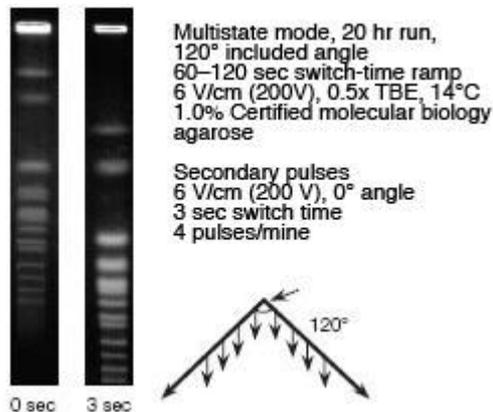
此種分析器有兩個優點：(1)分析速度快，可結合基質輔助雷射脫附游離法，節省樣品分析時間；(2)可以分析的質量範圍相當廣大，甚至可以到達 $m/z \sim 1,000,000$ ，對於大分子量的生化樣品，可以輕易的偵測。

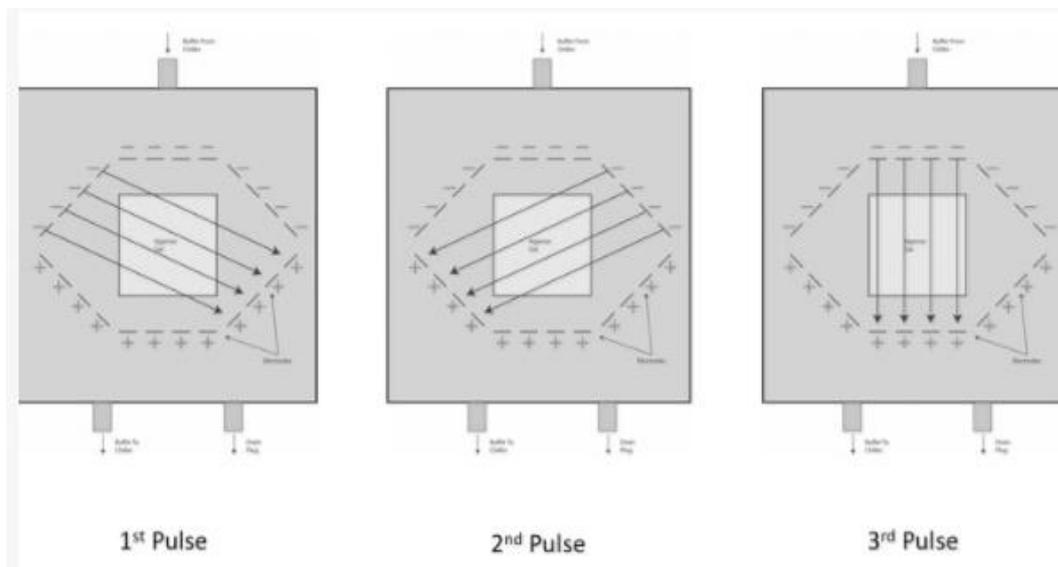
(1)+(2)=MALDI-TOF-MASS



(三)脈衝場凝膠電泳 (Pulsed Field Gel Electrophoresis; PFGE)

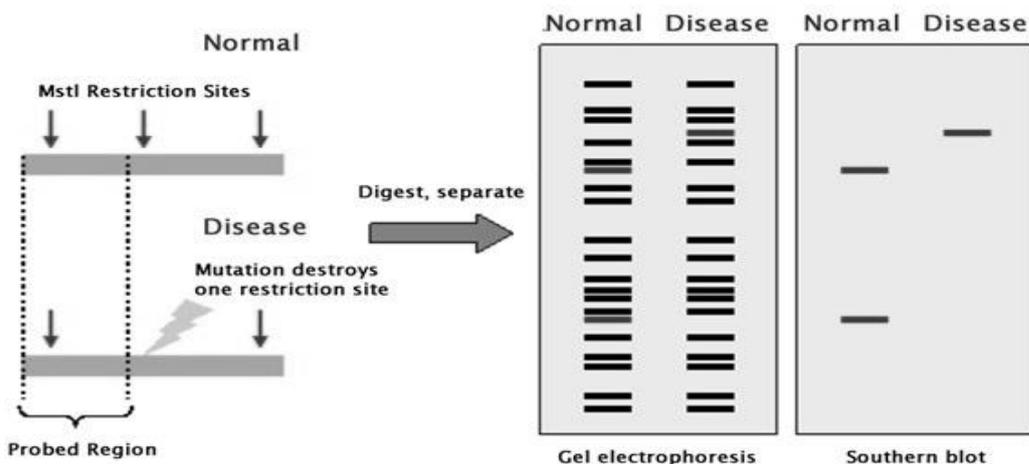
脈衝場凝膠電泳(PFGE)是一種分離大分子 DNA 的方法。PFGE 通過交替改變不同空間方位電極時間的電場，使數百萬鹼基大小的 DNA 大分子變向，並以不同的遷移速度通過洋菜膠孔而分離 DNA。在普通的凝膠電泳中，大的 DNA 分子 ($>10\text{kb}$) 移動速度接近，很難分離形成足以區分的條帶。在脈衝場凝膠電泳中，電場不斷在兩種方向(有一定夾角，而不是相反的兩個方向)變動。DNA 分子帶有負電荷，會朝正極移動。相對較小的分子在電場轉換後可以較快轉變移動方向，而較大的分子在凝膠中轉向較為困難。因此小分子向前移動的速度比大分子快。脈衝場凝膠電泳可以用來分離大小從 10kb 到 10Mb 的 DNA 分子。





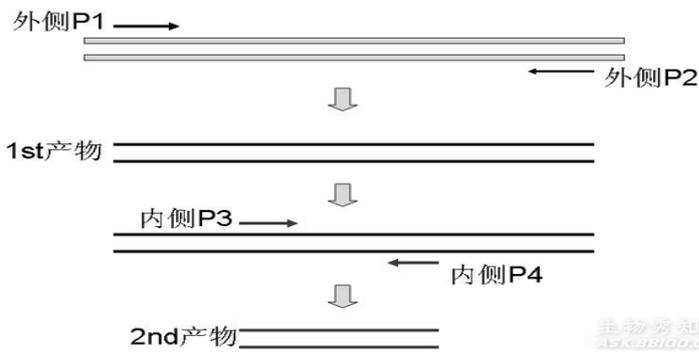
(四) 限制性片段長度多態性 (Restriction fragment length polymorphism ; RFLP)

DNA 的多態性檢測技術是進行基因組研究的基礎。限制性片段長度多態性(RFLP)已被廣泛用於基因組遺傳圖譜構建、基因定位以及生物進化和分類的研究。RFLP 是根據不同品種(個體)基因組的限制性內切酶的酶切位元點域基發生突變，或酶切位元點之間發生了域基的插入、缺失，導致酶切片段大小發生了變化，這種變化可以通過特定探針雜交進行檢測，從而可比較不同品種(個體)的 DNA 水平的差異(即多態性)，多個探針的比較可以確立生物的進化和分類關係。所用的探針為來源於同種或不同種基因組 DNA 的選殖，位於染色體的不同位點，從而可以作為一種分子標記(Mark)，構建分子圖譜。當某個性狀(基因)與某個(些)分子標記協同分離時，表明這個性狀(基因)與分子標記連鎖。分子標記與性狀之間交換值的大小，即表示目標基因與分子標記之間的距離，從而可將基因定位于分子圖譜上。分子標記選殖在質粒上，可以繁殖及保存。不同限制性內切酶切割基因組 DNA 後，所切的片段類型不一樣，因此，限制性內切酶與分子標記組成不同組合進行研究。常用的限制性內切酶一般是 BamHI, EcoRI, HindIII, XbaI 等，而分子標記則有幾個甚至上千個。分子標記越多，則所構建的圖譜就越飽和。



(五) 巢式 PCR (Nested PCR)

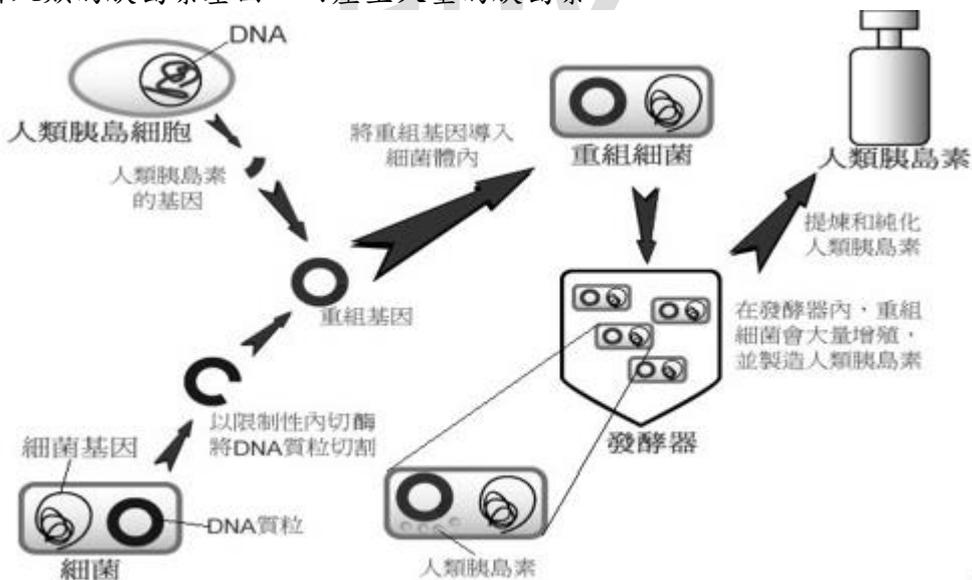
巢式 PCR 是一種變異的聚合酶鏈反應(PCR)，使用兩對(而非一對) PCR 引物擴增完整的片段。第一對 PCR 引物擴增片段和普通 PCR 相似。第二對引物稱為巢式引物(因為他們在第一次 PCR 擴增片段的內部)結合在第一次 PCR 產物內部，使得第二次 PCR 擴增片段短於第一次擴增。巢式 PCR 的好處在於，如果第一次擴增產生了錯誤片斷，則第二次能在錯誤片段上進行引物配對並擴增的概率極低。因此，巢式 PCR 的擴增非常特異。



二、治療用基因重組蛋白 (Therapeutic recombinant proteins)，是近幾十年來生物技術在醫學領域的重要應用。其中利用細菌生產基因重組人類胰島素，是最早也最成功的例子。請敘述為何以細菌生產基因重組人類胰島素，會是第一個成功的生物技術產品。也請敘述利用細菌生產製造基因重組人類胰島素的工作程序？(20分)

【擬答】

美國 Genentech 公司使用的技術是先萃取出大腸桿菌質體與含有人類胰島素基因的 DNA，之後利用可以切割特定部位的 DNA 限制酶切割質體與胰島素基因，而此時切開的質體與胰島素基因具有相同的切位，隨後利用 DNA 黏合酶將這些切位連接，進而連接胰島素基因與質體，完成重組 DNA 的構築。將建構好的重組 DNA 送入大腸桿菌細胞的技術稱之為轉型，而轉型的方法有很多，必須依照被轉型細胞的特性來選擇，如常用的有 PEG 轉型法、電穿孔轉型法、病毒轉型法等。目前大腸桿菌轉型法較常使用的是凍熱細菌質體轉型法，將質體 DNA 與細菌勝任細胞混合後，置於液態氮內 5 分鐘進行凍處理，再立即移至 37°C 進行熱處理 5 分鐘後，直接塗佈於已在 37°C 回溫之選擇性培養基，置於 37°C 下培養 16-18 小時，即可完成轉型。成功轉型的大腸桿菌會被篩選出來，主要是因為重組 DNA 上面具有特殊基因可以作為篩選的工具。篩選出來的大腸桿菌便可以表現出人類的胰島素基因，而產生大量的胰島素。



三、利用蘇雲金芽孢桿菌 (*Bacillus thuringiensis*; Bt) 產生的蛋白，來防治作物病蟲害是很成功基因殺蟲劑 (Genetic Pesticides) 的例子。請敘述整個機制，同時討論這種病蟲防治機制是否會對人類造成傷害？(20分)

【擬答】

(一) Bt 作用機制

蘇力菌是一種昆蟲病原細菌，屬好氣性革蘭氏陽性桿菌，在營養缺乏或環境不良的時候，會進入不分裂的半靜止期，或分化形成孢子和殺蟲結晶蛋白 (insecticidal crystal protein, ICP)，這種結晶蛋白對某些生物具有特殊的毒效，

蘇力菌殺死昆蟲的作用，是一種多步驟的程序。當昆蟲幼蟲吃下蘇力菌時，毒素晶體於昆蟲腸道中在高鹼性腸液和蛋白質分解酶的作用下，被分解成原毒素，再活化變成毒素。這

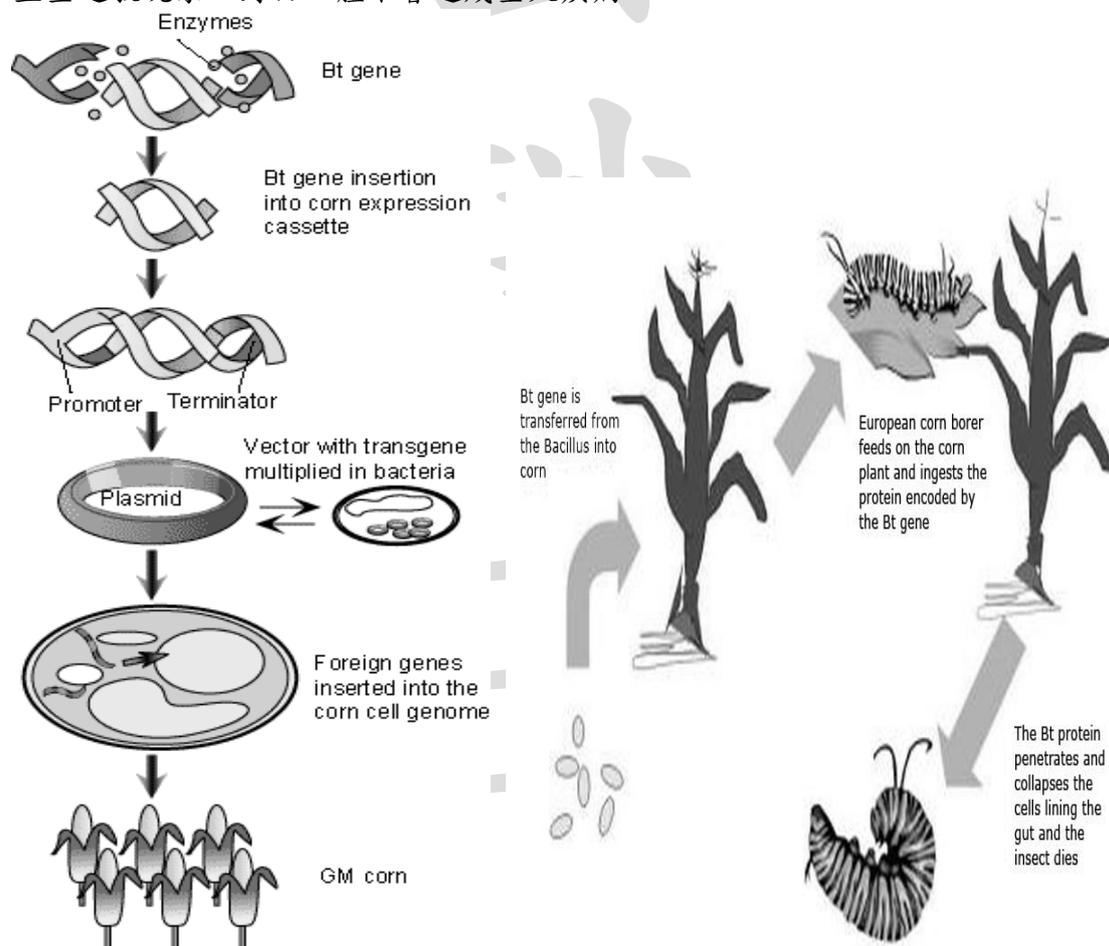
公職王歷屆試題 (106 地方特考)

些具有活性的毒素和昆蟲中腸的腸壁上皮細胞結合，迫使細胞破孔，造成昆蟲腸道崩解，中毒的昆蟲迅速停止攝食而死亡。

將蘇力菌中的 CRY 基因轉植入植物中 - 基改植物就會生成結晶毒蛋白-CRY 蛋白質(BT toxin)。生產蘇力菌時是運用大型發酵槽發酵，當桿菌在最適合的環境下分裂增殖，每一細胞內部各產生一個孢子，以及結晶之毒蛋白稱之「內毒素」，市面上的蘇力菌有兩種，大多都是有孢子及毒蛋白，但有少部分賣的只有毒蛋白。

(二)是否會對人類造成傷害?

1. 各種蘇力菌亞種和變種所產生的毒蛋白都不同，而且具有專一性，對其他非目標生物的傷害性比較少，對生態界的影響較小，是一種極為環保的生物農藥
2. 蘇力菌在美國 1961 年核准，可以當做一般殺蟲劑用，因為對人體皮膚、眼睛或黏膜可能有些微刺激性，所以歸類為毒性分屬第三類—微毒。
3. 「蘇力菌一般認為對人體無害，技術級之純蘇力菌，對於老鼠的口服半數 致死量 LD50 為 400 mg/kg，但製成劑型，濃度降低則為 8,100 mg/kg。」
4. 蘇力菌有通過人體口服實驗，所以美國核准其可以不用通過食物殘留量試驗，因此蘇力菌可以直接噴灑在食用作物上。
5. 當蘇力菌孢子跑進呼吸道，身體主要是一些有「外來蛋白質」的反應，所以最多只會產生些過敏現象，對於人體不會造成重大疾病。



四、複製科技 (Cloning) 的突飛猛進，未來將在生物醫學領域扮演重要的角色，但勢必也將衍生相關的爭議。請申論包括法律、社會與倫理等各方面可能的爭議。(20分)

【擬答】

隨著複製科技的日新月異，隨之而來的必定是不容忽視的法律、社會與道德倫理議題。複製人以科學上來講，就是將某人的體細胞核取出，再由另一人身上取出未受精的卵細胞，並除去細胞核，以電擊的方式將核細胞以及去核卵細胞結合，再將卵子培養成胚胎，植入子宮。產下後與提供核細胞的人擁有完全相同性徵的複製人。而複製器官指的是將人體其中一個內臟的細胞取

公職王歷屆試題 (106 地方特考)

出，再以現有科技的基因篩選法，將有遺傳疾病或疾病的基因篩選出，將其培養成一個健康的器官。這就是完全不排斥提供細胞的人的器官。

(一)法律上爭議

複製器官固然可以解決受苦病患的問題，但被摘取器官的複製人該如何處置，每年等待器官捐贈的人很多，如果合法當然可以就救活很多人，但並不符合倫理議題，從複製人身上直接將器官拿下來算是謀殺吧？基本上複製『人』應該尊重他是一個生命。

只要複製嬰兒出生時能夠獨立呼吸，依民法第六條的規定，就享有權利能力，受到國家法律的保障。不應該因為他是複製或是自然生產而受到歧視，剝奪法律保護的權益。

(二)社會上爭議

1. 器官販賣的問題。如果複製技術普及，並且成本大幅降低，也許會有不肖商人大量複製出健康的個體，再將其謀殺、摘取其器官販賣給需要器官捐贈的病患、醫院等，牟取暴利。這樣不僅複製人的生命權會嚴重受到威脅，整個社會的價值觀也很容易受到誤導而產生偏頗，認為複製人不過是可以任自己予取予求的一種資源。

2. 如果可以複製出重要的人物（例如已死的歷史人物、國家元首），那麼是否有可能讓歷史事件重演、或者是大幅影響人類的文明發展？例如複製出愛因斯坦（Albert Einstein）等優秀的科學家或許能讓科學發展有長足的進步，但如果大量複製出有暴力傾向的罪犯、侵略性極強的政治家，也有可能引發暴動等嚴重的社會問題、甚至是國際間的戰爭。

(三)道德倫理上爭議

1. 德問題牽涉到的主要是生命的權利。目前已知的複製技術成功率並不是很高，例如桃莉羊的誕生就是經過兩百多次的失敗之後終於成功的結果。然而社會往往只看到成功的豐碩果實，而忽略了其背後付出的代價。倘若我們讓複製技術不加限制地普及，卻沒有提升技術本身的成功率，那麼先前每一次失敗的複製胚胎培育，是否算是一種對個體生存權的剝奪？

2. 倘若複製成功前失敗的個體並沒有死亡，而是產生程度輕重不一的畸形，應該如何處置？

3. 複製人應該稱原個體為父母或是兄長、姐姐？原個體的父母對複製出的個體有沒有監護權？如果複製次數過多，會不會造成數代之後的複製人沒有父母、家庭的照顧及撫養？

4. 如果因為複製人的氾濫而導致人類的基因庫減少，其實對整個種族的延續將更加不利。

職
王