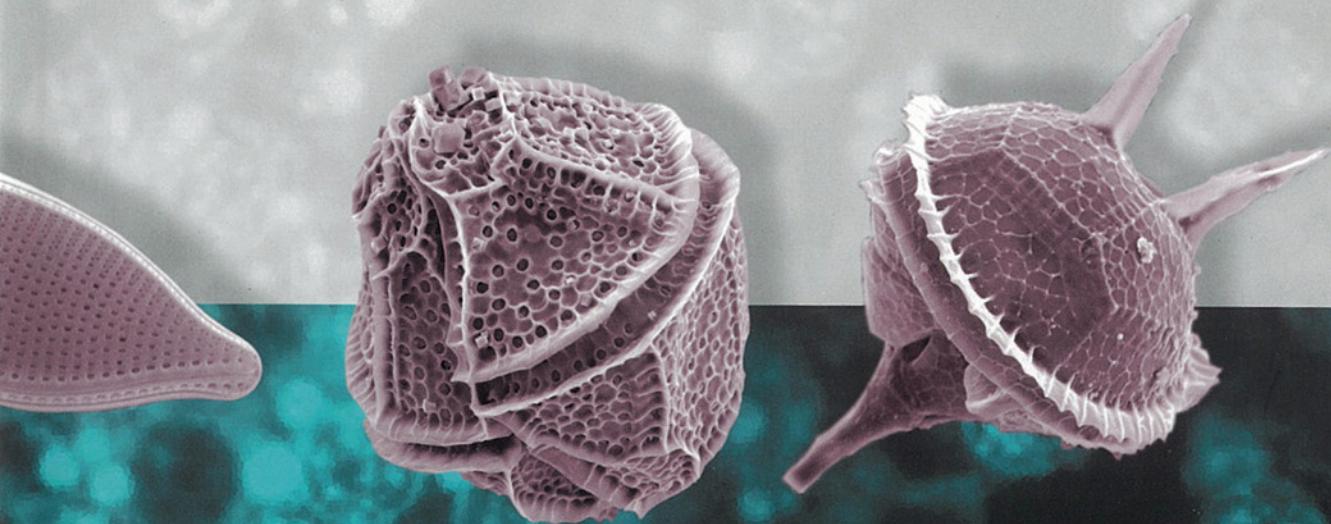


分子生物學實驗手冊

策 劃 ◎ 柯風溪、方力行

資料彙整 ◎ 鄭金娥

校 稿 ◎ 彭紹恩



國立海洋生物博物館 編印

海洋生物博物館技術叢書14

分子生物學實驗手冊

策 劃◎柯風溪、方力行

資料彙整◎鄭金娥

校 稿◎彭紹恩

國立海洋生物博物館 編印

序

蒐集、典藏、展示、營運、研究、教育推廣等均為博物館的基本任務，對海生館而言，研究工作更是所有任務的基礎，有優秀的專業研究人員以及傑出的研究成果，才能深化海生館的各項功能。自海生館開館以來，對提昇館內的研究風氣及水準，一直是不遺餘力。與國立東華大學合作成立海洋生物科技研究所及海洋生物多樣性及演化研究所即為一項具體措施，首創國內大學與博物館合作之先河，提供嚮往海洋生物科學研究的學子們一處絕佳的選擇，也為海生館引進了年輕的生力軍，更讓館內的專業研究人員能教學相長，充分發揮所長。成立技術平台為支持研究工作的另一項配套措施，在技術平台直接奧援下，專業研究人員的構想能更有效率的推動。鄭金娥小姐任職技術平台期間有相當傑出的工作表現，除專注於執行生物科技相關之研究工作外，並將各項基本的分子生物技術實驗方法歸納彙集成冊，使有志於分子生物相關領域的入門研究人員有所參考依循，在教學上及研究操作上均有相當實用的價值。謝謝鄭小姐費心地完成這本技術手冊，也期待這本手冊能充分發揮它的功能。

國立海洋生物博物館
館長 王維賢

前 言

自從1953年詹姆斯·沃森(Jin Watson)和弗朗西斯·克裏克(Francis Crick)提出DNA雙螺旋結構，揭開了生命的神秘面紗進而展開分子生物學的新篇章，直至1983年美國的慕里斯(Kary Mullis)研發出聚合酵素連鎖反應(PCR)技術，生物技術因而大量且廣泛的被應用於現代社會中。我國也於民國84年開始推動「發展生物技術方案」，各大專院校紛紛成立與生物技術相關的科系，生物技術的應用日漸廣泛，用來解決醫學、食品、農業、化學和環境等相關問題。

國立海洋生物博物館為因應二十一世紀「生物技術」世紀的來臨，亦於民國93年成立分子演化技術平台，希望藉由此技術平台的成立，建立分子演化的基礎生物技術，隨即於民國94年與東華大學合作成立海洋生物科技研究所及海洋生物多樣性及演化研究所，並將館內與分子生物技術相關的實驗設備進行整合，成立分子生物實驗室，並接受技術教學的申請，為統一教學內容，遂將平時常用到的實驗步驟和藥品整理成冊，本手冊內容適合無分生技術基礎初學者且有志從事分生實驗操作的同學一個簡單的入門技術資源介紹。

本技術手冊的發行要感謝國立海洋生物博物館生物馴養組陳明輝先生對技術內容提供的建議，企劃研究組彭紹恩博士花了相當大的精神進行多次的校對，科學教育組林君寧小姐在手冊編輯上的協助，海生館共生團隊、東華大學海洋生物科技研究所駱乙君同學和陳彥和同學提供漂亮的照片作為本手冊的封面，更感謝生物馴養組主任柯風溪博士、前館長方力行教授和現任館長王維賢教授對本技術手冊的支持。並請國內學者專家們給予批評指教。

國立海洋生物博物館
生物馴養組 鄭金娥

目 錄

- 002 序
- 003 前言
- 005 分子生物實驗室安全使用規定
- 007 實驗一、分生實驗常用單位換算，微量吸管(micropipette)之
使用及操作
- 011 實驗二、基因體DNA的分離和定量
- 011 實驗三、PCR聚合酶鏈鎖反應
- 019 實驗四、DNA電泳分析(agarose gel electrophoresis)
- 023 實驗五、PCR產物之純化
- 025 實驗六、基因轉殖(Cloning)
- 031 實驗七、轉殖菌落之篩選
- 033 實驗八、質體DNA的少量抽取及定量
- 035 實驗九、DNA定序分析
- 039 附錄A 常用藥品配置
- 043 附錄B 資料來源

分子生物實驗室安全使用規定

1. 本實驗室提供實驗場地和儀器，其餘耗材與藥品請研究人員自行準備。
2. 由於場地有限，實驗前請先洽詢管理人。
3. 實驗室內備有冷藏和冷凍設備，可提供研究人員於實驗期間暫存，請研究人員於實驗完畢後，一週內清除暫存的物品。
4. 實驗室的儀器、物品未經管理人同意請勿任意移動或借出。
5. 如實驗室內的儀器遇到不會使用時，請先問過管理人，學會操作後再用，不要自己隨便嘗試。若儀器有不正常現象或無法使用，請儘速告知管理人，以便維修。
6. 實驗室內禁止吃東西、喝飲料或抽煙。
7. 由於核酸容易受到酵素破壞，且實驗過程會使用到一些有毒溶劑（試劑），因此實驗時請戴上手套，手套碰到有毒溶劑或試劑，勿再觸碰其他物品，請馬上丟棄。
8. 在實驗室裡隨時都要穿著實驗衣，可避免化學藥品不小心弄壞衣服或傷到皮膚，也可以避免濺到化學藥品或染劑。
9. 每次做實驗之前，先將實驗桌用70%酒精消毒，再用紙巾擦拭，使桌面乾燥。做完實驗之後，同上述步驟再處理一次。
10. 所有配置的藥品或樣品請標上藥品名稱、配置日期及配置人姓名，放置固定位置，如有移動請於實驗完後放回原位。
11. 菌液的處理：本實驗使用的細菌不是病原菌，但在某些情況下，任何細菌皆可能造成污染，而且，實驗中部分菌體帶有來自質體的抗藥性，隨意丟棄容易造成環境中抗藥性細菌的繁殖，故請依下列方法處理：(1)與細菌接觸過的任意容器或培養基，使用後必需經滅菌才可丟棄。(2)實驗中若不小心被菌液濺到，以70%酒精消毒。(3)桌面或地面有菌液翻覆

時，請以10%漂白水擦拭清理。

12. 小心使用加熱器，如加熱板、微波爐、酒精燈等，不用或離開時應將電源關掉或熄火。
13. 做完實驗後，爲了你的健康在離開之前要洗手。
14. 發生任何意外或傷害時，請立刻通知管理人，儘速採取應變措施。

實驗一

分生實驗常用單位換算，微量吸管(micropipette)之使用及操作

■目的：分生實驗常用單位之換算，微量吸管(micropipette)之使用及操作。

■原理：

分子生物技術經常使用微量體積的樣本，所以會常使用到微量吸管。

一、常用單位換算：

體積單位： $1\text{ L}=10^3\text{ mL}=10^6\ \mu\text{L}$ ， $0.001\text{ L}=1\text{ mL}=10^3\ \mu\text{L}$

重量單位： $1\text{ Kg}=10^3\text{ g}=10^6\text{ mg}=10^9\ \mu\text{g}$

$0.001\text{ Kg}=1\text{ g}=10^3\text{ mg}=10^6\ \mu\text{g}$

濃度單位： $0.001\text{ M}=1\text{ mM}=10^3\ \mu\text{M}$

二、常用濃度換算

(1)百分率(W/V)：如1 g NaOH溶在100mL水中，則此NaOH溶液百分比為： $1/100\times 100\%=1\%$

(2)莫耳濃度(M)：moles/L，如：40 g NaOH(MW=40) 溶在500mL水中，則莫耳濃度= $(40/40)/(500/1000)=2\text{ M}$

三、溶液之稀釋：

利用 $N_1V_1=N_2V_2$ 公式，例如：配置0.01 M Tris溶液500mL需1 M Tris溶液多少mL?

設需1 M Tris溶液 X mL則

$$1 \times X = 0.01 \times 500$$

$$X = 5\text{ mL}$$

四、微量吸管之使用

分子生物技術經常使用微量體積的樣本，所以會常使用到微量吸管。