

實驗活動（四）

親子鑑定

（學生版本）

I. 背景

親子鑑定是一項應用 DNA 指紋分析，來確認父母與子女血源關係的生物技術。不少人道組織如紅十字國際委員會，都以這技術來提供尋親服務，幫助求助者尋回在天災或武裝衝突中失散的親屬。

親子鑑定與等位基因的組合有關。原來每個人的基因都遺傳自父親和母親各自一個的等位基因，並由此組合而成。因此，只要比對兩個人的等位基因，便可確定他們是否存有血源關係。

DNA 指紋分析建基於每個人之間有着 DNA 多態性。在人類基因組中，存在着大量可遺傳的短小而重複的鹼基序列。這些鹼基序列雖然沒有編碼蛋白，但在不同個體中存在着變異。親子鑑定可以通過檢測不同種類的 DNA 多態性來進行，而現時最常用於親子鑑定的是短串聯重複序列（short tandem repeats, STRs）的 DNA 多態性。一般來說，短串聯重複序列泛指人類基因組中的一些具有重複性短鹼基序列的區域（亦稱短重複序列基因座，STR loci）。在每個個體中，這些短序列的重複次數存在着變異。重複的短序列愈多，基因的區域就愈長。通過比對兩個人的短串聯重複序列基因座長度時，便可確定他們是否存有血源關係（圖 1）。通常每次親子鑑定測試都會比對 18–20 組不同的短重複序列基因座。

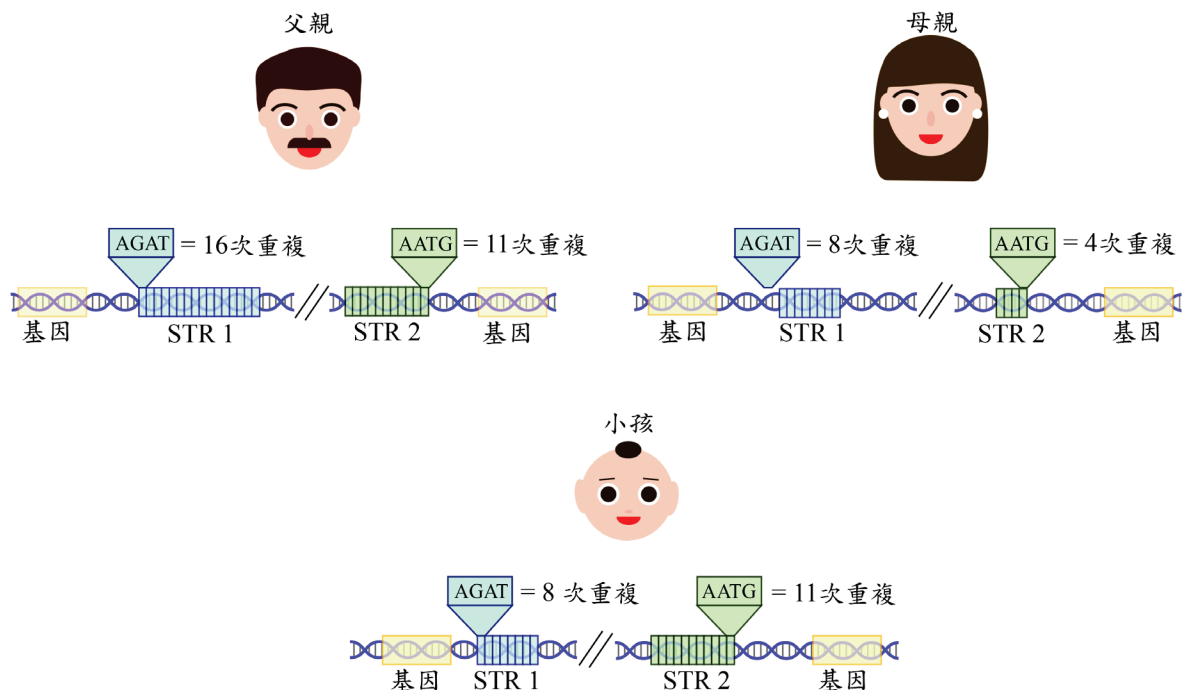


圖 1

使用聚合酶鏈反應（PCR）配合凝膠電泳，可以確定這些基因座的長度。簡單來說，先用 PCR 擴增 DNA 樣本中特定基因座的 DNA 序列複本以達到可測量水平，然後進行凝膠電泳來檢測基因座的鹼基序列長度。

在本實驗中，我們將會以凝膠電泳來分析四個模擬 DNA 樣本是否存有血源關係。模擬 DNA 樣本來自一位母親、一個兒子和兩位男士。

II. 關於實驗設計的導引問題

1. 進行凝膠電泳的目的是什麼？
2. 在圖 2 中，試畫出下列不同大小的 DNA 片段在電泳後的凝膠圖像上大概出現的位置。

凹穴 1：1000 鹼基 (bp)；凹穴 2：780 bp；凹穴 3：400 bp 及 凹穴 4：800 bp。

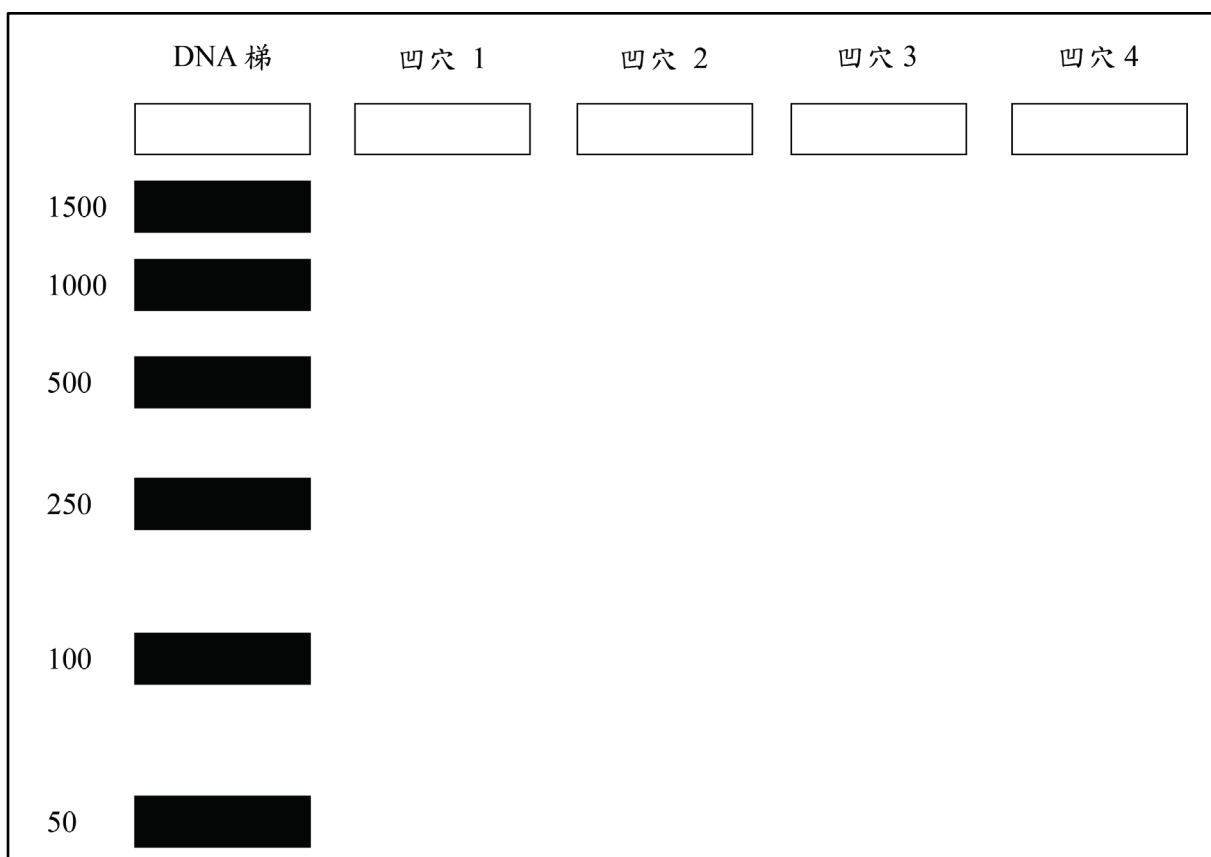


圖 2 一塊凝膠

III. 實驗目標

利用凝膠電泳來分析四個模擬 DNA 樣本是否存有血源關係。

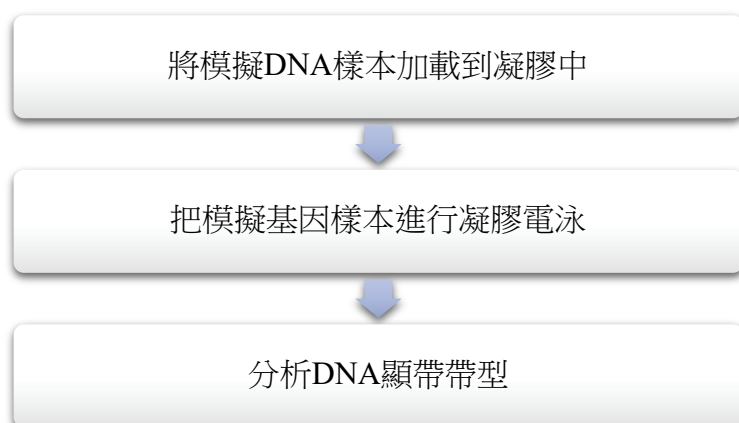
IV. 預期學習成果

完成這項學習活動後，學生應能：

1. 認識 DNA 指紋分析的應用；
2. 概述 DNA 指紋分析的原理；以及
3. 進行凝膠電泳。

V. 實驗活動

A. 概述



B. 實驗部分：進行模擬親子鑑定

a) 設備和材料（每組）

設備

- 電泳槽 × 1
- 電泳槽電源 × 1
- 凝膠成像儀／紫外光燈 × 1
- 微量移液器（P10）和無菌移液器吸頭

材料

- 模擬母親的 DNA（6 μ l） × 1
- 模擬兒子的 DNA（6 μ l） × 1
- 模擬男士 A 的 DNA（6 μ l） × 1
- 模擬男士 B 的 DNA（6 μ l） × 1
- 微量離心管架 × 1
- 瓊脂糖凝膠托盆及梳子 × 1
- TBE 緩衝液（1 L） × 1
- DNA 梯（4 μ l） × 1
- 石蠟封口膜

- 標記筆 × 1
- 紙巾 × 1 盒
- 生物危害品丟棄袋 × 1
- 廢棄物貯存容器（盛有 10% 氯漂白水） × 1

b) 安全措施

- 穿着實驗袍。
- 束起長髮。
- 實驗期間佩戴手套。
- 實驗前後洗手，以去除所有污染。
- 實驗結束後，妥善處理或消毒所有材料。

c) 實驗步驟

1. 從教師或實驗室技術員取得已準備好的瓊脂糖凝膠。

2. 小心地將梳子從已固化的凝膠中垂直地取出。此時，取出的凝膠已形成小凹穴，跟着將凝膠放進電泳槽中（圖 3）。

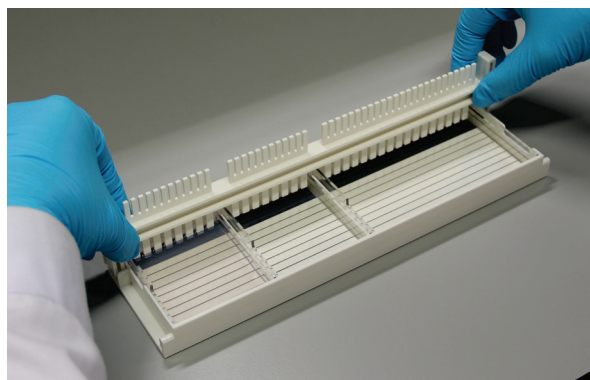


圖 3

3. 將TBE緩衝液倒入槽中，直至完全淹過凝膠面（圖 4）。

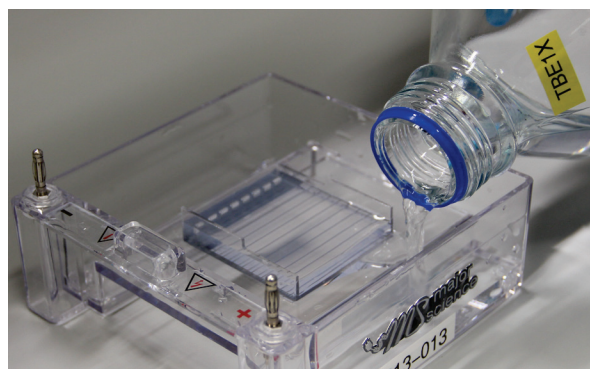


圖 4

4. 依照表 1 指示，使用 P10 微量移液器及無菌吸頭，將 4 μ l 模擬的母親 DNA 樣本小心地*加進對應的凝膠凹穴，即凹穴2（圖 5）。

*注意：假若將氣泡意外地注入凝膠的凹穴中，就會令一些 DNA 樣本從凝膠凹穴中噴出，流入電泳槽中，導致 DNA 樣本大量流失及信號強度降低。

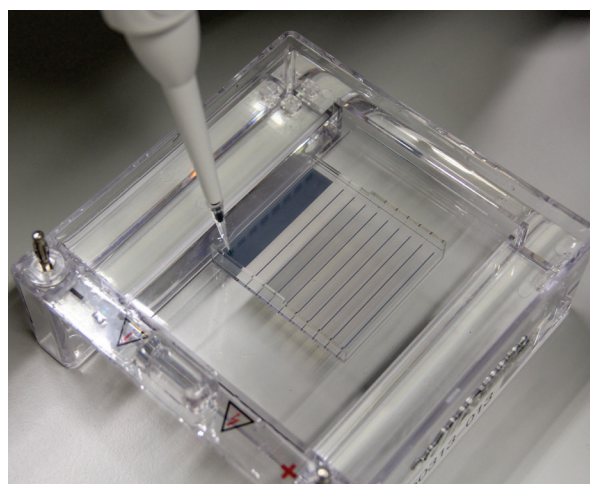


圖 5

表 1

凝膠凹穴位置	凹穴 1	凹穴 2	凹穴 3	凹穴 4	凹穴 5
應加入的樣本	DNA 梯 (2 μ l)	模擬母親的 DNA (4 μ l)	模擬兒子的 DNA (4 μ l)	模擬男士 A 的 DNA (4 μ l)	模擬男士 B 的 DNA (4 μ l)

5. 重複步驟 4，以同樣方法把其餘 3 個模擬基因樣本[#]添加到對應的凹穴中。

[#]注意：在處理不同樣本時使用新的吸頭。

6. 使用 P10 微量移液器及無菌吸頭，將 2 μ l DNA 梯小心地添加到對應的凝膠凹穴，即凹穴 1。
7. 將電泳槽蓋好，接駁電源。



8. 開啟電源，將電壓調至 80 – 100V 之間，進行電泳 25–40 分鐘[#]。留意電源兩極周圍是否有氣泡產生。出現氣泡代表電源接駁成功。

[#]注解：如以低電壓進行長時間電泳，可以增加顯帶在凝膠上的分離度和分辨率。如以高於 180V 的電壓進行電泳，緩衝液可能會過熱，會將凝膠軟化。電泳時間的多少取決於凝膠的大小、使用的電壓、緩衝液的類型和樣本中 DNA 分子的長度。當染料前沿已遷移至凝膠長度的大約 80% 的位置，便可關掉電源，停止電泳。

9. 將用過的吸頭丟棄在指定盛有 10% 氯漂白劑的廢棄物貯存容器內（無需高壓滅菌處理）；或放置於生物危害品丟棄袋內，以便容後進行高壓滅菌處理。
10. 電泳完畢，取出凝膠，放進凝膠成像儀內或紫外光燈[^]下，觀察電泳結果，並拍照記錄。

[^]注意：使用任何紫外線設備時，應戴上丁腈或乳膠手套，以及佩戴防紫外線眼鏡或面罩。

11. 在觀察和分析後，將不需要的凝膠丟棄在指定的廢棄物貯存容器內。

VI. 結果

1. 在下面的空框內，貼上模擬 DNA 樣本的凝膠電泳圖像。



2. 根據 4 個模擬 DNA 樣本的凝膠電泳結果，哪位男士（A 或 B）是孩子的生父？簡要說明你的答案。

VII. 討論

1. 根據電泳圖像上的顯帶帶型，怎樣確定父母與孩子之間存有血源關係？

2. 可用類似方法確定兄弟姊妹的關係嗎？

3. 為什麼進行親子鑑定時要檢查 18-20 個基因座？

4. 身體上哪些組織可作為提取 DNA 的生物樣本，以進行親子鑑定？

5. 提取 DNA 樣本進行聚合酶鏈反應（PCR）的目的是什麼？

延伸討論問題

6. 在進行 PCR 時，除 DNA 樣本外，還需要將以下的化學品添加到 PCR 管中。這些化學品的功能是什麼？

化學品	功能
無核酸酶的水	
10× <i>Taq</i> 緩衝液	
25 mM 氯化鎂	
10 mM dNTP	
正向和反向引物	
<i>Taq</i> 聚合酶	

7. 在親子鑑定中，進行PCR時通常會檢查18-20個基因座的短串聯重複序列（STR），以比較每個基因座中兩個等位基因的長度。如果基因座的兩個等位基因的長度相同，此等位基因稱為純合子；若長度不相同，就稱為雜合子。通過比較不同基因座等位基因的大小，可相應地確定測試樣本的血源關係。

- (a) 從書籍和互聯網上搜尋資料，列出一些在親子鑑定中常見帶有STR的基因座。

- (b) 確定以下的STR（即位於人類2號染色體上的TPOX）中重複單元[AATG]的數量。

CCACACAGGTAATGAATGAATGAATGAATGAATGCCTAAGTGCC

- (c) 從下表中所列出特定的基因座上的等位基因的短序列的重複數量，判斷等位基因是雜合子還是純合子。

基因座	重複的短序列	等位基因1的重複數量	等位基因2的重複數量	雜合子或純合子
STR D5S818 位於5號染色體上	AGAT	7	8	
STR CSF1PO 位於5號染色體上	AGAT	13	13	
STR D7S820 位於7號染色體上	GATA	6	12	
STR D8S1179 位於8號染色體上	TCTA	10	10	

(d) 根據以下結果，哪些人有機會有血源關係？

	男士 A	男士 B	男士 C
基因座	等位基因 1 / 2 的 重複數量	等位基因 1 / 2 的 重複數量	等位基因 1 / 2 的 重複數量
STR D5S818	10 / 12	7 / 8	10 / 12
STR CSF1PO	13 / 13	13 / 12	13 / 13
STR D7S820	6 / 12	12 / 12	6 / 12
STR D8S1179	10 / 10	8 / 10	10 / 10
