

2022 年【全國科學探究競賽-這樣教我就懂】

國中組 成果報告表單

題目名稱：「萃」燦奪目—校園植物的 DNA 萃取

一、摘要

我們想要萃取 DNA，但是在疫情期間，利用口腔皮膜細胞作為實驗材料不太理想，因為怕會有飛沫傳染的風險，所以我們從唾手可得的校園植物下手。我們透過「Google 相簿」的「偵測」功能認識校園植物，並蒐集了「變葉木、小葉桑、馬櫻丹、金露花、樟樹葉、石蓮花與落地生根」的葉片作為 DNA 粗萃取實驗的植物樣本，我們比較不同植物 DNA 粗萃取的效率，其中，只有小葉桑與變葉木的粗萃取效果顯而易見，但因為我們學校中的小葉桑取得不易，所以我們便使用變葉木來做實驗。為了更了解實驗的目的與其中步驟、材料的功用，我們設計實驗——探討粗萃取實驗中各個步驟的重要性，發現「酒精溫度、洗碗精有無」是必要的實驗步驟，而「嫩精有無、食鹽水濃度」則影響實驗不大。

二、探究題目與動機

走在校園裡，我們親近著大自然，看到了許多豐富的植物，例如：變葉木、樟樹、馬櫻丹……，這時，我們忽然想到了生物課本上提到的 DNA，但是課本上只有圖示並沒有真正的 DNA 照片。再看向植物，我們打算萃取植物的 DNA，才可以看見 DNA 的真面目，在經過一番查資料發現，DNA 粗萃取的實驗好像滿簡單的，為了可以更加瞭解實驗器材之功效及目的，我們一一設計實驗，並著手開始研究。

三、探究目的與假設

在校園中，有各式各樣的植物，我們摘了一些不同種類的植物，想探討以不同植物的葉片作為 DNA 萃取實驗材料的可行性與 DNA 萃取實驗中加入個試劑之目的。如果不加，會有什麼結果？為了解惑，我們訂出了以下幾個研究目的和假設：

- I. 萃取不同校園植物的 DNA，找到適合的生物材料。
- II. 假設不同植物(同克數)，DNA 的含量會不同。
- III. 假設不同溫度的酒精 DNA 含量會不同。
- IV. 假設加嫩精 DNA 會較多。
- V. 假設有加洗碗精 DNA 會比較多。
- VI. 6.假設不同莫耳濃度的食鹽水 DNA 含量會不同。

四、探究方法與驗證步驟

器材：校園植物、電子秤、果汁機、蒸餾水、燒杯、洗碗精、玻棒、食鹽、嫩精、紗布、試管、95%酒精、量筒、試管架、手機 (google 相簿)。(圖一)

實驗一：利用 google 相簿「偵測」功能認識校園植物

1. 用相機功能拍攝校園植物。
2. 打開 google 相簿，點選植物照片，選按「偵測」認識校園植物。
3. 將網頁搜尋到的植物名稱及其特徵記錄於表一。

| | | | | | | | |
|----|---|---|---|---|--|---|---|
| 名稱 | 小葉桑 | 石蓮花 | 樟樹 | 馬櫻丹 | 落地生根 | 金露花 | 變葉木 |
| 圖示 |  |  |  |  |  |  |  |
| 特徵 | 葉互生，具柄，掌狀深裂，光滑無毛。 | 多年生肉質草本植物，葉肥厚多肉，葉對生。 | 葉互生，成橢圓形，光滑無毛，葉質薄革質，全緣。 | 單葉對生，闊卵形，粗紙質，鈍鋸齒緣，有毛茸。 | 葉對生，羽狀複葉，葉片肉質，邊緣有圓齒。 | 葉對生，全緣，有茸毛。 | 葉互生，革質，肥厚而平滑，長橢圓形，大波狀緣。 |

↑表一：常見的校園植物葉片型態比較

實驗二：校園植物 DNA 萃取

DNA 粗萃取之步驟及原理(取自生物活動趴：DNA 粗萃取)：

1. 使用電子秤秤量出 10g 植物葉片並放入果汁機中(圖二)，加入 50ml 的蒸餾水，攪碎成植物汁液，破壞植物細胞壁。(圖三)
2. 將已攪碎的植物汁液倒入燒杯中，並加入 1.5ml 的洗碗精，使用玻棒攪拌 5 分鐘，破壞細胞膜、核膜。
3. 加入 1.5ml 的 5M 食鹽水，使用玻棒攪拌 5 分鐘，使 DNA 溶解於水溶液中。
4. 加入嫩精 1.5g，使用玻棒攪拌 5 分鐘，破壞蛋白質。
5. 將燒杯中的植物汁液倒入另一個置有紗布的燒杯中，讓水溶液完全通過紗布，過濾其中的雜質。(圖四)
6. 取 5ml 濾液倒入試管中，倒入 5ml 冰酒精，冰酒精能降低細胞中酵素分解 DNA 的速率，在冰酒精與植物汁液的交界處會產生白色的絮狀物質(圖七，箭頭處)，即為粗萃取的植物 DNA。

實驗結果(圖七)：由結果顯示小葉桑與變葉木較容易看到明顯的 DNA。

接著，因為我們在網路上查到很多篇關於 DNA 粗萃取的文章，步驟中要加的試劑不同文章描述的有些許差異，利如有些文章有特別說明食鹽水的濃度，有些則沒有，因此，為了探究 DNA 粗萃取實驗中所加入的試劑之功效，我們設計出以下實驗，我們學校的變葉木取得較容易，我們便以變葉木作為實驗材料：

實驗三：探討洗碗精在實驗中的角色

1. 重複「實驗二」的第 1 步驟。
2. 在第 2 步驟將操縱變因設為「洗碗精有無」，取濾液 5ml 倒入試管中，對照組試管的植物汁有加入洗碗精(+)，實驗組則無(-)。
3. 重複「實驗二」3~6 步驟。
4. 觀察植物 DNA 萃取效率。

實驗結果(圖八)：實驗中我們觀察到沒有添加洗碗精的實驗組無法萃取出 DNA。

實驗四：探討食鹽水在實驗中的角色

1. 重複「實驗二」1~2 步驟。
2. 配製食鹽水 (0M、1M、3M、5M、飽和食鹽水) (圖五)：
 - (1) 蒸餾水：100ml 蒸餾水+0g 食鹽。
 - (2) 1M 食鹽水：100ml 蒸餾水+5.85g 食鹽。
 - (3) 3M 食鹽水：100ml 蒸餾水+17.55g 食鹽。
 - (4) 5M 食鹽水：100ml 蒸餾水+29.25g 食鹽。
 - (5) 飽和食鹽水：100ml 蒸餾水(40°C)+35.9g 食鹽，緩慢攪拌至無法溶解食鹽，分離出殘餘食鹽。
3. 在第 3 步驟將操縱變因設為「食鹽水莫耳濃度」，取濾液 5ml 倒入試管中，分別加入 0M、1M、3M、5M、飽和食鹽水各 5ml。
4. 重複「實驗二」4~6 步驟。
5. 觀察植物 DNA 萃取效率。

實驗結果(圖九)：由結果中我們看不出不同濃度的食鹽水對於 DNA 萃取效率的影響，就連只加清水也可以萃取出 DNA。

實驗五：探討嫩精在實驗中的角色

1. 重複「實驗二」1~3 步驟。
2. 在第 4 步驟將操縱變因設為「嫩精有無」，取濾液 5ml 倒入試管中，對照組試管的植物汁有加入嫩精，實驗組則無。
3. 重複「實驗二」5~6 步驟。
4. 觀察植物 DNA 萃取效率。

實驗結果(圖十)：我們發現實驗組與對照組萃取效率差異不大，但是卻還是有些微的差距，對照組 DNA 較多，實驗組則較少。

實驗六：探討酒精在實驗中的角色

1. 重複「實驗二」1~6 步驟。

2. 在第 6 步驟將操縱變因設為「酒精溫度」，取濾液 5ml 倒入試管中，分別倒入冰酒精(4°C)(冷藏)、常溫酒精(介於 20~25°C)、熱酒精(50°C)(熱水浴) (圖六)。
3. 觀察植物 DNA 萃取效率。

實驗結果(圖十一)：實驗中我們發現冰酒精(4°C)萃取量最多，常溫酒精(20°C)其次，而熱酒精(50°C)效果最差。

圖片：



↑圖一：實驗器材



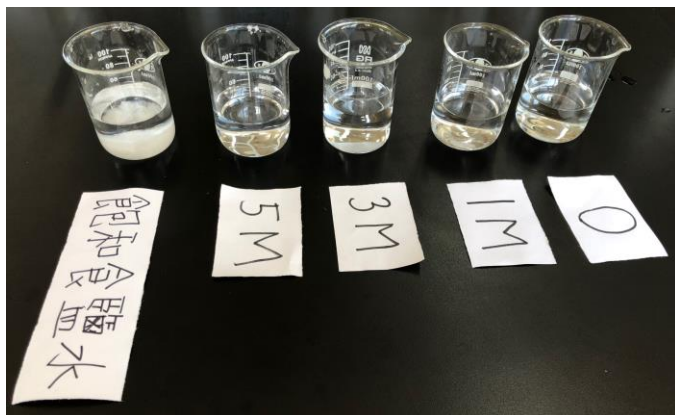
↑圖二：將植物精秤 10g



↑圖三：將植物打碎



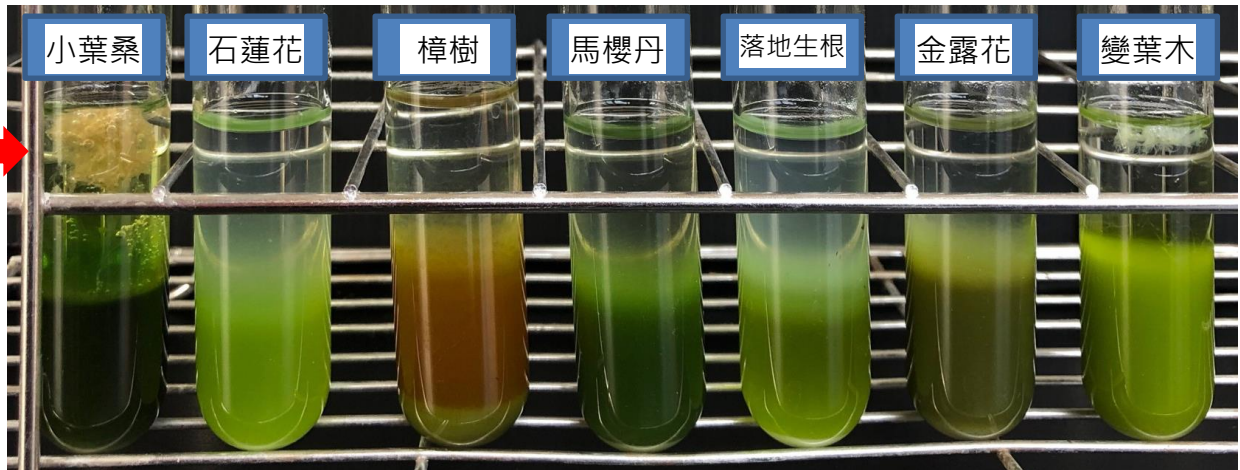
↑圖四：過濾植物汁



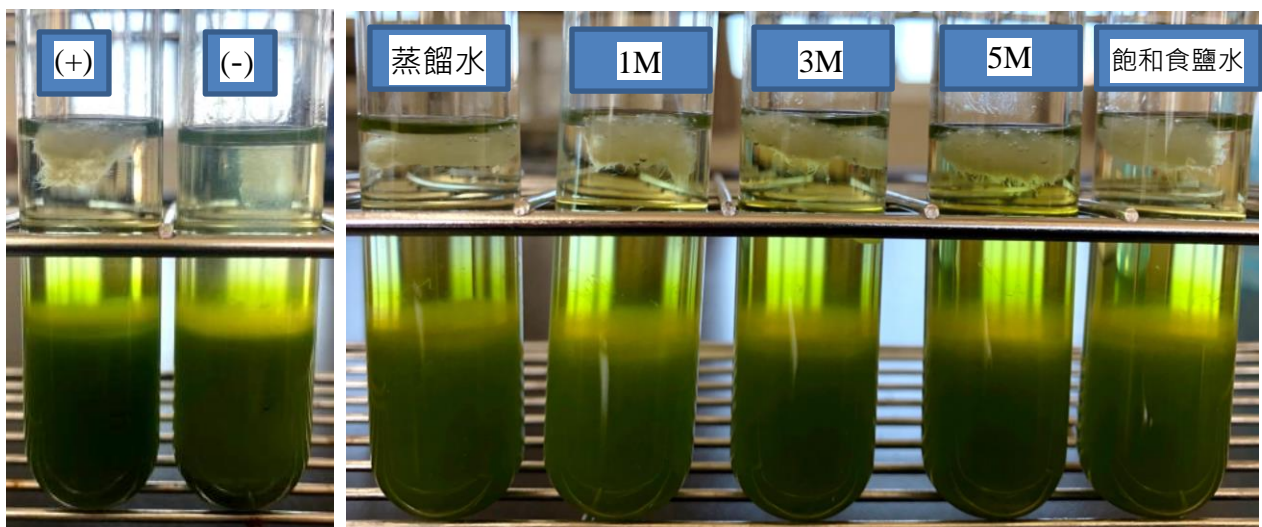
↑圖五：配製不同濃度食鹽水



↑圖六：配製不同溫度酒精

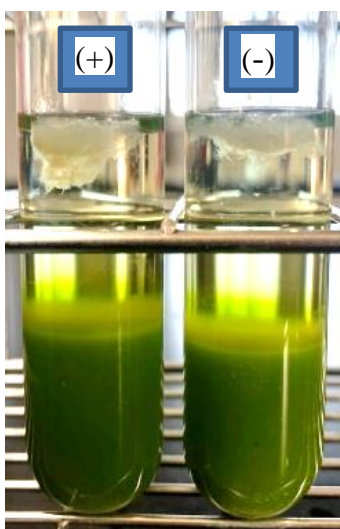


↑圖七：不同校園植物作為 DNA 萃取實驗材料的可行性

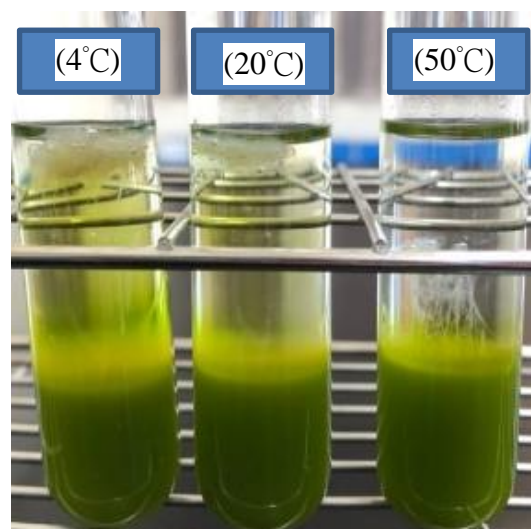


↑圖八：洗碗精有(+)無(-)
對 DNA 萃取之影響

↑圖九：食鹽水濃度對
DNA 萃取之影響



↑圖十：嫩精有(+)無(-)對
DNA 萃取之影響



↑圖十一：酒精溫度對於 DNA 萃取之影響

五、結論與生活應用

1. 我們萃取了不同的校園植物，發現萃取量有很大的差異（圖七，紅色箭頭處），例如小葉桑和變葉木就很容易看到萃取出來的 DNA，這可能是因為這兩種葉片葉面都比較大，葉片比較厚，而像馬櫻丹和金露花的葉片則小又軟。另外石蓮花和落地生根的葉片都比較厚、富含水分，所以我們秤重 10 公克的葉片，使用到的葉片數量很少。另外我們搜集到的樟樹葉片幾乎都是老葉。可能是以上種種原因導致我們無法萃取出每種植物的 DNA，影響到實驗的變因有很多，我們目前只能說並非所有校園植物都適合作為 DNA 萃取的材料，還要更進一步地探究分析。
2. 而實驗中，我們設計不同的變因去探究 DNA 粗萃取實驗每一步驟的重要性。我們發現食鹽水莫耳濃度、嫩精有無對於 DNA 粗萃取實驗結果的影響不大，怪不得大多數文章並無強調說要添加，但是我們手邊並無可以定量 DNA 濃度及純度的設備，所以我們只能以肉眼做判斷，存在非常多誤差。另外，我們查到的資料指出加入濃食鹽水的目的為使 DNA 成溶解狀態，而核酸的溶解度其實會隨食鹽濃度的變動而改變，在 0.14M 食鹽濃度溶解度低，在無鹽及高鹽濃度溶解度高，因此未來我們想要自製分光光度計來嘗試定量出不同濃度食鹽水萃取 DNA 的效率。
3. DNA 萃取實驗的關鍵步驟是洗碗精的添加及酒精的溫度。特別是洗碗精的添加，洗碗精中含界面活性劑(十二烷基硫酸鈉，SDS)，可破壞細胞膜、核膜，使 DNA 釋出，若是少了洗碗精的添加將完全看不到白色的絮狀物。此外，由於 DNA 不溶於酒精這類有機溶劑，但細胞中部分成分，如細胞膜、核膜卻可溶於酒精，且酒精密度低會與食鹽水分層，使不溶之 DNA 凝聚析出。而我們也查到溫度越低的酒精，越能降低細胞中酵素分解 DNA 的速率，使 DNA 析出效果越佳這點與我們的結果相符。
4. 總結：我們認為如果是家中廚房就能簡單萃取 DNA 的標準進行實驗，則必須準備的關鍵材料是洗碗精和 95% 冰酒精，其餘則無太大影響。至於以 75% 酒精萃取 DNA 的效率我們未來也可以探究。

參考資料

- 一. 分子遺傳學實驗：DNA 的粗萃取。(http://www.mingdao.edu.tw/biological/jeffery/DNA.pdf)
- 二. DNA 粗萃取。(取自生物活動趴：DNA 粗萃取)
- 三. Win：DNA 的粗萃取。
- 四. 認識植物 <http://kplant.biodiv.tw>：
小葉桑、石蓮、樟樹、馬櫻丹、落地生根、金露花、變葉木。