

2008 年第十九屆國際生物奧林匹亞競賽 -- 實驗試題(2)

中華民國生物奧林匹亞競賽代表團

實驗二：動物解剖及生理學

總分：60 分

總操作時間：60 分鐘

試題一、動物解剖及生理學 (54 分)

請在 45 分內完成本部分

【材料及裝備】

- 編號 1 號到 9 號的盒子(不可打開盒子)
- 編號為 1A, 2A 及 3A 三個頭骨的照片
- 放大鏡 1 個

【說明】

骨骼系統為動物提供支持的骨架、也限定動物的結構，骨骼系統有三種類型，包括：外骨骼、內骨骼及水骨骼系統。

內骨骼決定脊椎動物的體型、支持其

體重並讓肌肉能夠附著，雖然不同動物群的骨骼在構造上會有變異，但基本的體制是相同的。

在本試題中，請你觀察並比較三種現存脊椎動物的內骨骼，給你的骨骼標本包括了頭骨、脊柱及四肢骨，請你正確配對這幾部分以完成三種脊椎動物完整的骨骼系統。

Part A：骨頭的比較

(i) 頭骨的類型

脊椎動物的頭骨是作為其頭部形狀架構的骨質構造，結構上分為四區：額骨、頂骨、枕骨及顳骨(圖 1)，頭骨在不同區域具有開孔，包括鼻孔、眼窩及顳窗，眼的相對位置決定動物的視野。

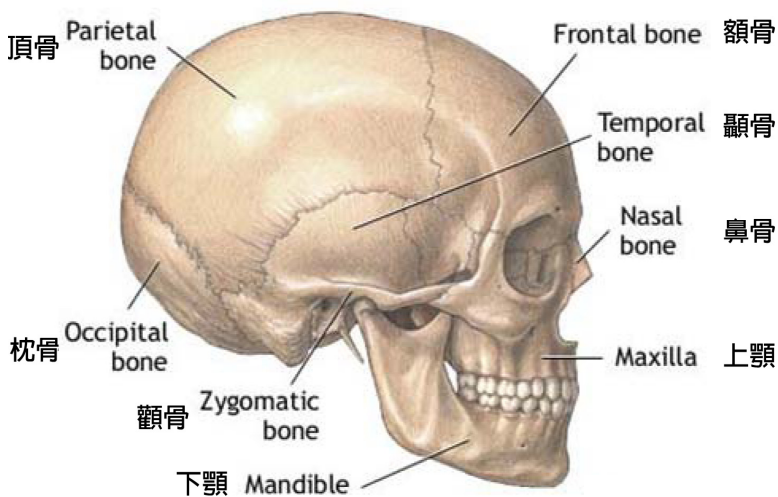


圖 1

脊椎動物可藉由顛窗的數目及其位置分為下列四大類：

(A)無弓型頭骨：除了鼻孔及眼窩之外，頭蓋骨上沒有別的開孔，顛骨區域是封閉的，是魚類、兩生類及早期爬蟲類的特徵(圖 2)。

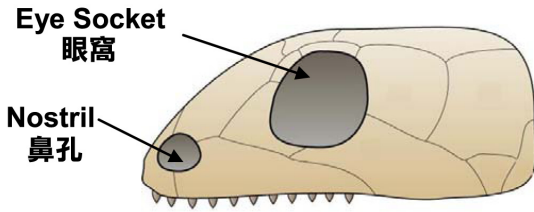


圖 2

(B)合弓型頭骨：特徵為頭骨有一對顛窗，在哺乳類的祖先中發現，代表其早期由無弓型分歧出來，現代哺乳類的頭骨是一種變化的合弓型 (圖 3)。

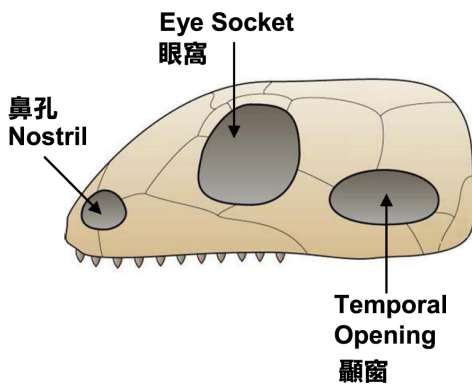


圖 3

(C)雙弓型頭骨：特徵為頭骨上具有兩對顛窗，此型頭骨由無弓型分歧出來，並出現極多種變化，在翼手龍及恐龍

的化石中發現，也在鳥類及所有現生的爬蟲類中發現。由蜥蜴發現的一個雙弓型頭骨的變種顯示下方顛窗不像上方顛窗那麼顯著(圖 4)。

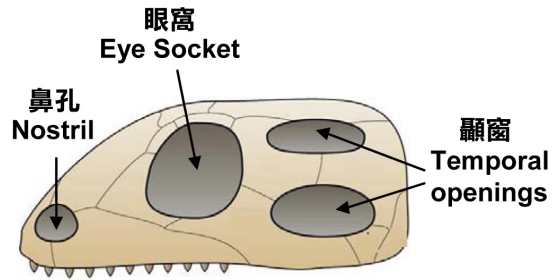


圖 4

(D)寬弓型頭骨：特徵為具有一對顛窗，此型頭骨似乎是由雙弓型祖先失去下方顛窗而分歧出來的，有兩群中生代的海棲爬蟲類(蛇頸龍及魚龍)具有此類型的頭骨 (圖 5)。

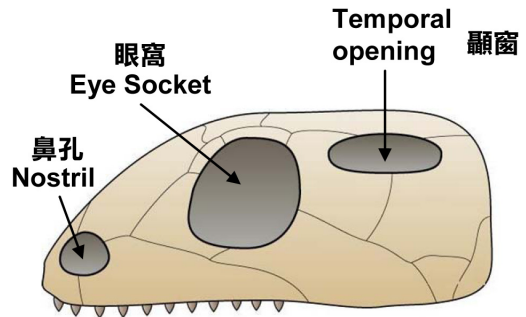
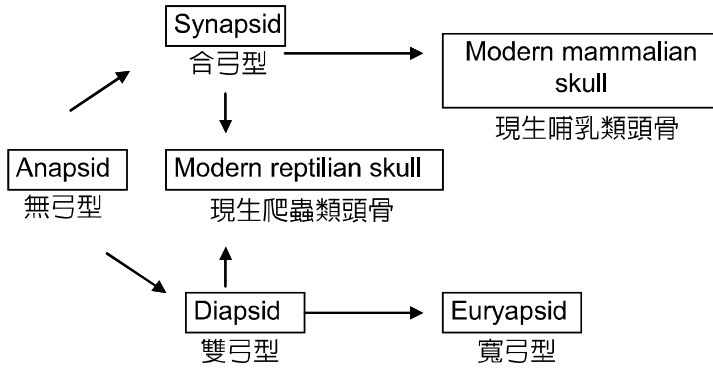


圖 5

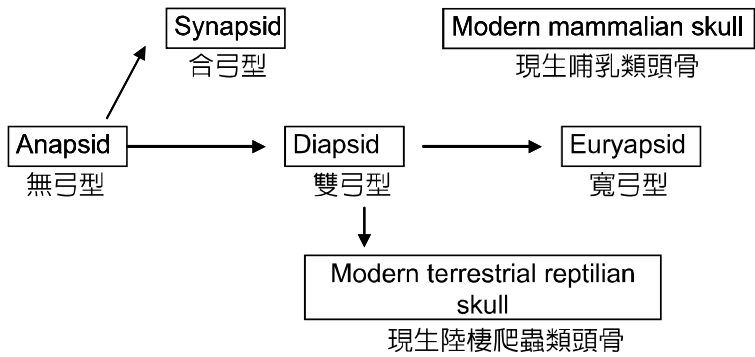
問題 1.A.1. (2 分)

根據上面提供的資訊，選出最能顯示頭骨演化的分支圖，在答案卷的 Q.1.A.1處打鉤(✓)。

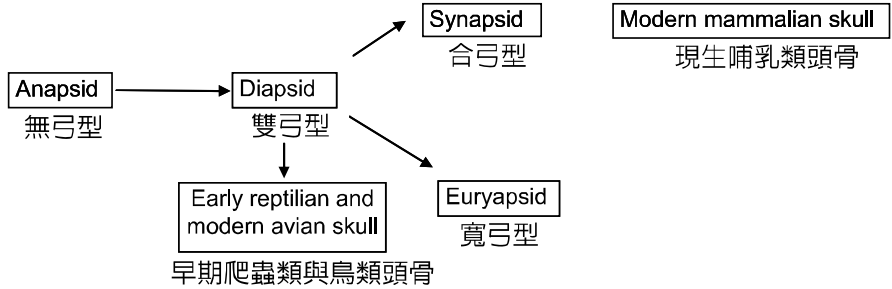
a.



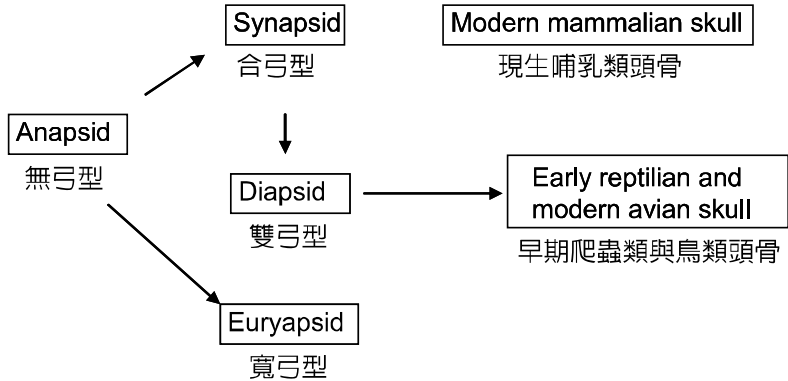
b.



c.



d.



a.	b.	c.	d.

(ii) 齒型

齒型就是動物牙齒的類型與排列，是動物對其食性適應的一種。根據其齒型，脊椎動物大致可分為同型齒的及異型齒的兩類；根據動物在一生中會換牙幾次，動物可再分為雙套齒的及多套齒的兩類。

問題 1.A.2. (6 分)

觀察樣本 1, 2 及 3 的頭骨類型和 1A, 2A 及 3A 三個頭骨照片中所對應的齒型，在答案卷的表.1.A.2.中的正確位置打鉤(✓)。

表.1.A.2

特徵		1	2	3
頭骨類型	無弓型			
	雙弓型			
	合弓型			
	寬弓型			
牙齒類型	同型齒			
	異型齒			

問題 1.A.3. (6 分)

觀察樣本中的眼窩位置及牙齒的類型，在答案卷的表.1.A.3.中的正確位置打鉤(✓)。

表.1.A.3

特徵		1	2	3
視覺	體視覺為主			
	以非立體視覺為主			
食性	肉食為主			
	草食為主			

Part B：脊柱與肋骨的比較

脊柱與肋骨組成中樞骨骼系統，脊柱是身體的主軸、由一串分開的骨頭（脊椎骨）所組成，相連而形成脊椎(圖 6)。

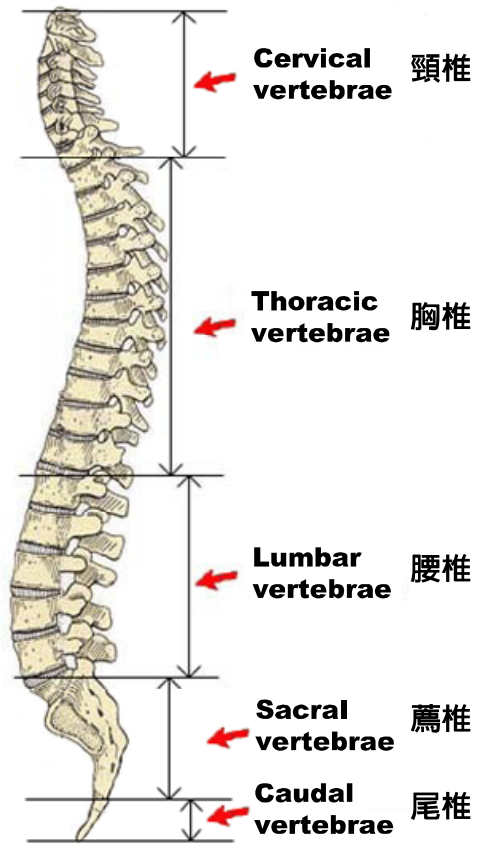


圖 6

最上端是頸椎，特徵是其橫向突起極度退化，頸椎骨的數目通常與頸部能運動的程度相關。

高等動物的胸椎很重要，因為各節胸椎能與在腹面的肋骨及胸骨組成肋骨腔。

肋骨也能讓肌肉附著，在內臟外形成保護腔，有時並可作為呼吸作用的輔助構造(圖 7)。

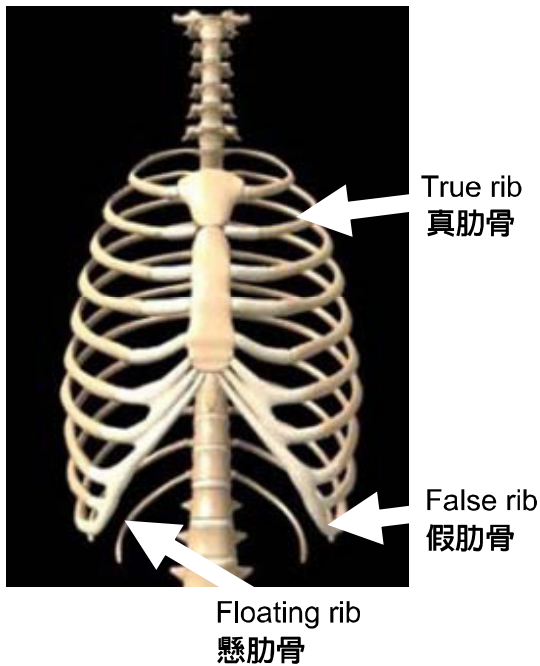


圖 7

胸骨是在腹面中央的骨頭構造，供胸肌附著，並固定住真肋骨的前端形成保護性的肋骨腔，發育良好的肋骨腔是哺乳動物的特徵。

四足類動物肋骨的分類是根據其與胸骨建立關係的類型。三種的肋骨分別為：

真肋骨--在腹面能與胸骨相接的肋骨

假肋骨--會彼此連接，但不與胸骨相接的肋骨

懸肋骨--不與胸骨或其他構造連接，懸肋骨數目多、運動時的自由活動度大

問題 1.B.1.及問題 1.B.2. (8+3=11 分)

觀察樣本 4, 5 及 6，在答案卷的表.1.B.1.及表.1.B.2.中的正確位置打鉤(✓)。

表.1.B.1.

特徵		4	5	6
肋骨	有			
	無			
肋骨主要類型	真			
	假			
	懸			
尾	有			
	退化/無			

表.1.B.2.

特徵		4	5	6
頸部運動	受限制			
	不受限制			

Part C：四肢骨的比較

脊椎動物由水中到陸地、陸地到空中各階段會對附肢系統的設計造成衝擊，附肢骨骼包括成對的鰭或四肢及肩(腰)帶，其排列的示意圖如下(圖 8 及 9)。



圖 8、攤開式四肢的關節示意圖

問題 1.C.1. (12 分)

小心觀察樣本 7, 8 及 9，在答案卷的表.1.C.1.中的正確位置打鉤(✓)。

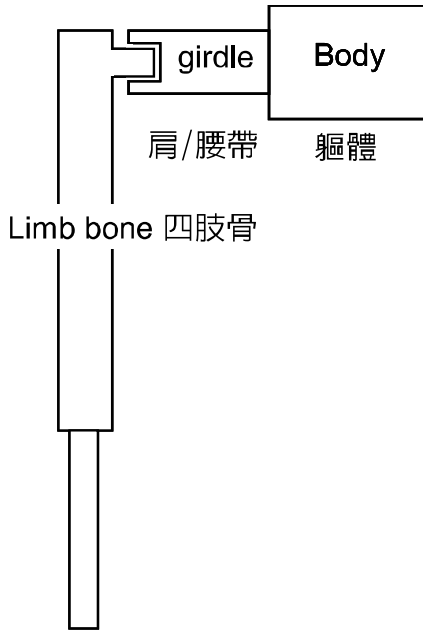


圖 9、體下式(在身體下方)四肢的關節示意圖

表.1.C.1.

特徵		7	8	9
四肢與身體相對位置	攤開式			
	體下式			
前後肢的長度	相似			
	前肢較長			
	後肢較長			
爪	有			
	無			
變化	股骨下端之脛骨與腓骨完全癒合			
	股骨下端之脛骨與腓骨部份分開			

問題 1.C.2. (8 分)

根據你的觀察，在答案卷的表.1.C.2.中的正確位置打鉤(✓)。

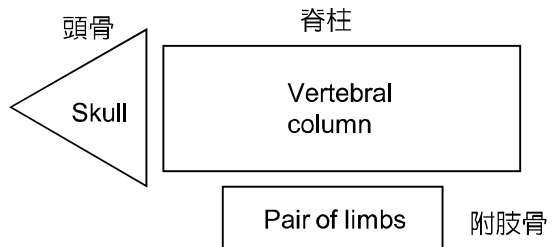
表.1.C.2.

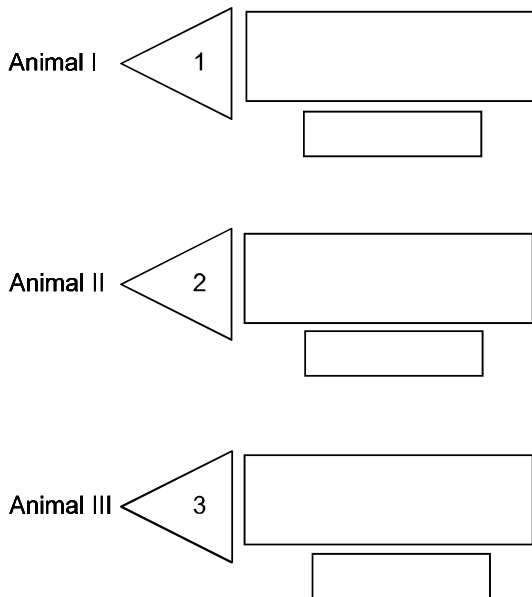
特徵		7	8	9
運動時四肢的移動	游泳(旋轉式移動)			
	擺動式移動			
動物的習性	跳躍式			
	行走式			
	挖掘式			

Part D：骨骼系統的裝配

問題 1.D.1. (6 分)

九個標本 (三個頭骨、三個脊柱骨、三個四肢骨) 分別屬於三種不同的動物 (I, II, and III)。將下方示意圖中標本的代碼 (4 到 9)寫在答案卷的 Q.1.D.1.的正確位置組建三種動物。



**問題 1.D.2. (3 分)**

三種動物分別為何？由下方選項 (A~E) 中選擇，且將答案寫在答案卷的 Q.1.D.2. 中的正確位置。

Animal I : Class: _____

Animal II : Class: _____

Animal III : Class: _____

選項：

- A. Mammalia
- B. Reptilia
- C. Aves
- D. Amphibia
- E. Pisces

試題二、含氮廢物的半定量估算(12 分)

請在 15 分內完成本部分

【材料】

1. 六孔瓷盤 3 個

2. 牙籤 20 支
3. 油性筆 1 支
4. 衛生紙 1 卷
5. 裝廢棄物與洗液的容器 1 個
6. 試劑 (裝在塑膠盒中) 一種一瓶

【標示】 【試劑】

- A. Phosphotungstic acid (磷鎢酸)
- B. Sodium carbonate (20% w/v) (碳酸鈉)
- C. Uric acid (standard solution) (尿酸)(標準液)
- D. Ehrlich's reagent (mildly corrosive) (賀氏試劑)(小心操作)
- E. Urea (standard solution) (尿素)(標準液)
- F. Sodium nitroprusside ($\text{NaFe}(\text{CN})_5\text{NO}$)
- G. Oxidizing solution (氧化溶液)
- H. Phenol solution (mildly corrosive)(酚溶液)(小心操作)
- I. Ammonia (standard solution) (氨)(標準液)
- S1. Simulated Sample 1 (樣本 1)
- S2. Simulated Sample 2 (樣本 2)
- S3. Simulated Sample 3 (樣本 3)
- H₂O Distilled water (蒸餾水)

【簡介】

脊椎動物擁有許多排除含氮廢物的方法，這些含氮廢物大多來自蛋白質與核酸的代謝。他們從水生移向陸地生活便適應了許多排泄的策略。有三種主要的含氮廢物分別為氨、尿素與尿酸。氨是最易溶於水中，尿酸則是最難溶解的。氨是最具

毒性的，需要以大量稀釋的形式來排泄。
尿酸則以半固體的形式排泄。

三種含氮廢物樣本 (S1, S2 and S3) 分別來自三種不同的生物。分別依照實驗步驟，找出三種含氮廢物樣本中何者為氮、尿素與尿酸。

【說明】

1. 每個實驗，分別用標準液與蒸餾水作為陽性對照與陰性對照。
2. 有關顏色等級，陽性對照標記為“+++”，陰性對照標記為“-”。
3. 紀錄結果時，陽性與陰性對照組不列入計分。

【實驗步驟】

1. 利用磷鎢酸還原法測定尿酸
原理：鹼性條件下，尿酸會還原磷鎢酸成為藍色產物。
步驟：
(1) 三種含氮廢物樣本 (S1, S2 and S3) 各取三滴，分別加在磁孔盤中的不同孔洞中。
(2) 在每個檢體中，先加入一滴試劑 B，之後再加入一滴試劑 A。分別用乾淨的牙籤混合均勻，觀察混合後的呈色反應。
(3) 標出欲測樣本的顏色等級，陽性對照的顏色等級為“+++”，陰性對照的顏色等級為“-”作為標準進行等級劃分。

問題 2.1.1. (3 分)

在答案卷表 2.1. 中分別標出‘+++’，

‘++’或‘+’記號來代表陽性等級結果，
‘-’記號來代表陰性結果。

2. 利用賀氏試劑 (Ehrlich’s reagent) 測定尿素

原理：強酸的條件下，尿素會與賀氏試劑 (Ehrlich’s reagent) (pdimethylaminobenzaldehyde) 反應形成黃色染劑 (Schiff’s base)。

步驟：

- (1) 三種含氮廢物樣本 (S1, S2 and S3) 各取三滴，分別加在磁孔盤中不同的孔洞。
- (2) 在每個檢體中，加入一滴試劑 D。分別用乾淨的牙籤混合均勻，觀察混合後的呈色反應。

問題 2.1.2. (3 分)

立即在答案卷表 2.1 中分別標出‘++++’，‘+++’，‘++’或‘+’記號來代表陽性等級結果，‘-’記號來代表陰性結果。等級劃分依照陽性對照標記為“+++”，陰性對照標記為“-”進行。

3. 利用吡啶酚藍測定氮

原理：在鹼性溶液中，銨離子會與氧化劑作用形成單氯胺。在有酚與過量的氧化劑參與下，單氯胺會形成藍色的吡啶酚，此時加入 nitroprusside 是做為催化劑之用。

步驟：

- (1) 三種含氮廢物樣本 (S1, S2 and S3)
各取三滴，分別加在磁孔盤中不同的孔洞。
- (2) 在每個檢體中，先加入一滴試劑 G，之後再加入一滴試劑 F，最後加入一滴試劑 H。分別用乾淨的牙籤混合均勻。

問題 2.1.3. (3 分)

2 分鐘後在答案卷表 2.1 中分別標出 '++++', '+++', '++' 或 '+' 記號來代表陽性等級結果， '-' 記號來代表陰性結果。等級劃分依照陽性對照標記為 "+++"，陰性對照標記為 "-" 進行。

表 2.1.

	尿酸	尿素	氨
S1			
S2			
S3			
Positive control			
Negative control			

問題 2.2 (3 分)

依照上述的結果，從 a - g 中選出一個正確脊椎動物綱的組合，填在答案卷 Q.2.2. 中。

Answer: _____

選項：

- a. S1: Pisces S2: Mammalia S3: Reptilia
b. S1: Amphibia S2: Aves S3: Pisces
c. S1: Mammalia S2: Reptilia S3: Aves
d. S1: Mammalia S2: Pisces S3: Aves

e. S1: Aves S2: Pisces S3: Mammalia

f. S1: Reptilia S2: Amphibia S3: Mammalia

g. S1: Aves S2: Reptilia S3: Amphibia

Pisces: 硬骨魚綱

Amphibia: 兩生綱；

Reptilia: 爬蟲綱

Aves: 鳥綱

Mammalia: 哺乳綱

實驗三：生物化學與細胞學

總分：43 分

總操作時間：60 分鐘

試題一

Part A：β-lactam 酶的活性與抑制研究 (35 分)

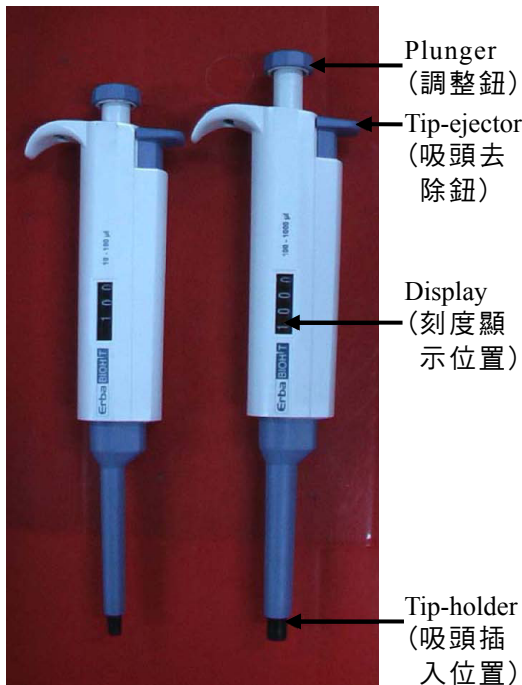
【材料與方法】

1. 比色計，含一組(七隻)比色管，1 組
2. 試管，8 支
3. 試管架，1 個
4. 微量吸管(容量 10-100μl)，1 支
5. 微量吸管(容量 100-1000μl)，1 支
6. 微量吸管吸頭(容量 10-100μl)，20 根
7. 微量吸管吸頭(容量 100-1000μl)，20 根
8. 培養皿相片，6 張
9. 油性筆，1 支
10. 衛生紙，1 卷
11. 含蒸餾水的洗瓶，1 個
12. 廢棄物與洗液容器，1 個
13. 繪圖紙，1 張

【溶劑】

Label (標示)	Reagent (溶劑)	Container (容器)
A	β - Lactamase enzyme (1.85 mg/ml) β - lactam 酶	Vial 微量滴管
B	Inhibitor (100 mM) 抑制劑	Vial 微量滴管
C	Penicillin G (0.54 mM) 盤尼西林 G	Blue-stoppered tube 藍色蓋子的大離心管
D	Sodium phosphate buffer, pH 7.0 (10 mM) 磷酸鈉緩衝液	Blue-stoppered tube 藍色蓋子大離心管
E	CuSO ₄ -Neocuproine reagent 硫酸銅 - 新氧化銅溶劑	Blue-stoppered tube 藍色蓋子大離心管
F	HCl (2 M) 鹽酸	White-stoppered tube 白色蓋子小離心管

【微量吸管操作】



圖一

【調整方法】

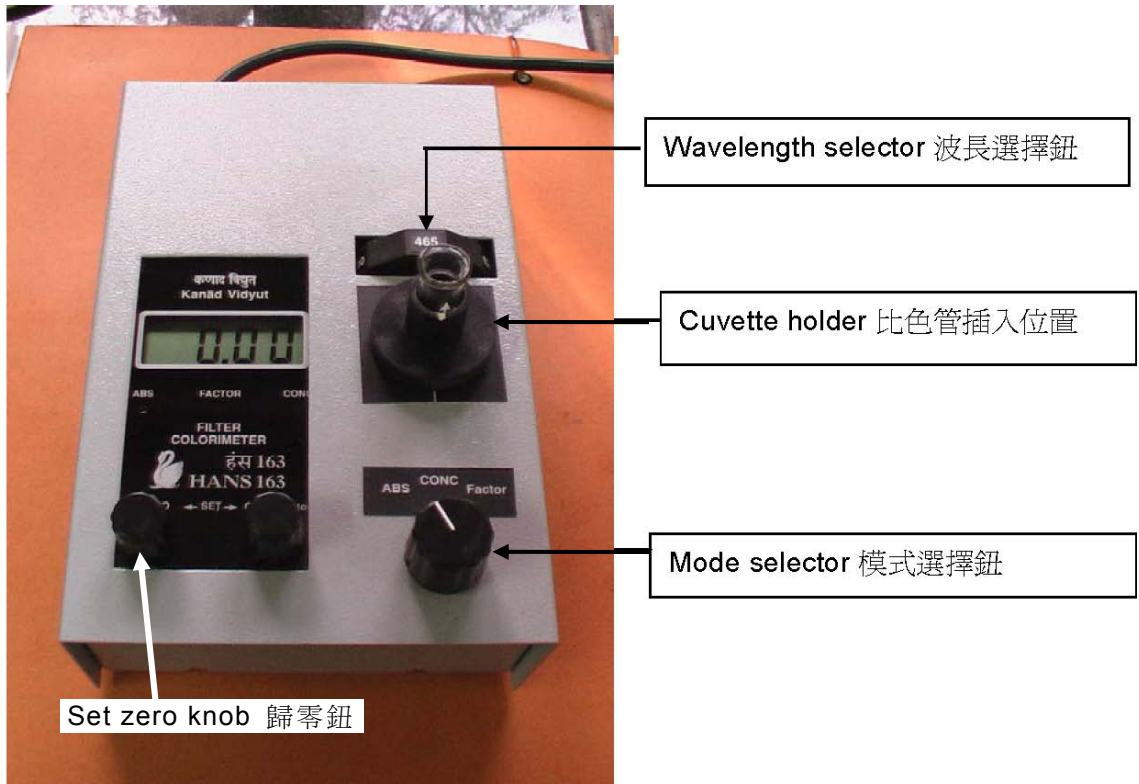
如圖一所示，轉動調整鈕 (plunger) 調整到所需要的體積數。可以由刻度顯示位置得知 (Display)。

請注意每支微量吸管各有其使用範圍，請勿超出其使用範圍使用。

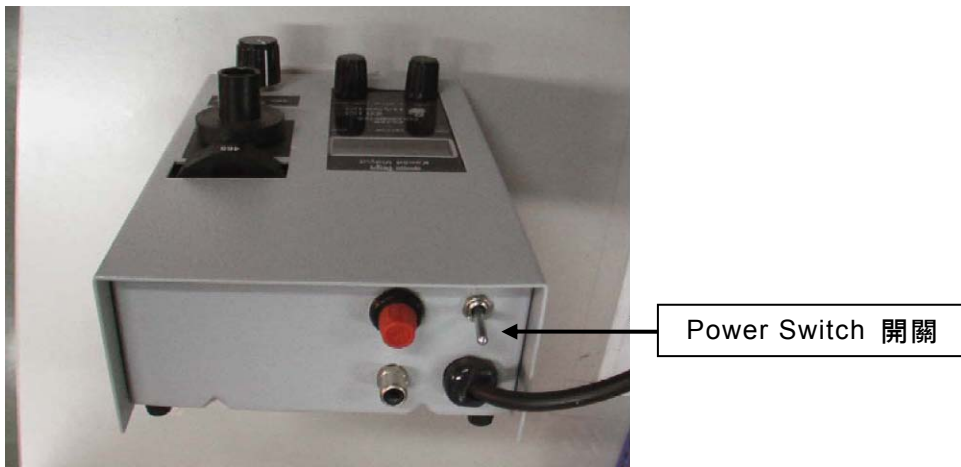
【使用方法】

將吸頭準確而完全插入吸頭插入位置 (tip holder)。按下調整鈕 (plunger) 到第一段，此時不要放開調整鈕，將吸頭前端插入液面下約 2 - 4 mm 位置處。慢慢鬆開調整鈕，讓液體流入吸頭內，直到原先位置。將吸頭內的液體移入待裝入的試管中。讓吸頭接觸試管內壁，壓下調整鈕 (plunger) 到剛剛第一段的位置，再用力壓下直到液體完全被吹出吸頭。將微量吸管移開，壓下吸頭去除鈕 (tip-ejector)，讓用過的吸頭射入廢棄物與洗液容器中。

【比色計操作指南】



圖二-1、比色計鳥瞰圖



圖二-2、比色計背面

1. 打開比色計開關。(如圖二，比色計背面)
2. 將模式選擇鈕轉到 ABS 處 (Absorbance mode)
3. 利用波長選擇鈕將波長設定在 465nm 處
4. 取一支空白的比色管，利用衛生紙將比色管外圍擦拭乾淨。之後，將該比色管插入比色管插入位置處，輕輕的將比色管整支完全插入。
5. 利用歸零鈕將讀數調整到“0”。此時你可以利用它去測定吸光值。

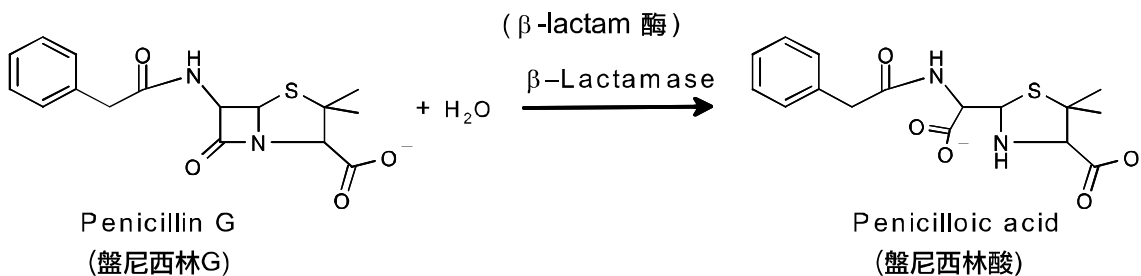
【簡介】

盤尼西林是一種具有 β - lactam 環

結構的抗生素。該抗生素殺死細胞的機制為抑制細菌細胞壁的生成。有些細菌會合成 β -lactam 酶，進而破壞盤尼西林的活性。這些細菌因為會分泌 β -lactam 酶而對盤尼西林產生抗藥性。當病人受到該細菌感染後，盤尼西林的治療對這類感染者將是無效的。要解決此種問題，研發 β -lactam 酶抑制劑便是一項重要的工作。有效的研發 β -lactam 酶抑制劑必須依靠兩種指標， IC_{50} 與 K_i 值。 IC_{50} 指抑制 50% 酵素活性的濃度。 K_i 指抑制劑對酶的親和力。

【 β -lactam 酶分析原理】

β -lactam 酶藉由催化下列反應進行盤尼西林的去活化作用：



在新氧化銅(neocuproine)存在下，盤尼西林酸會與 $CuSO_4$ 形成化合物。這種黃色的物質可以在 465nm 波長下藉由比色計所測得。

本試題中你將進行下列計算：

◆藉由不同濃度抑制劑所產生的反應曲線，計算抑制劑的 IC_{50} 值與 K_i 值。

抑制劑的濃度反應曲線是利用不同濃度的抑制劑作用下進行 β -lactam 酶活性測定後得知。

問題 1.A.1 (18 分)

依照下列步驟進行實驗，並將吸光值填寫於答案卷 表 1.A.1. 中

I. 準備下列反應混合液

Test tube (試管)	Sodium phosphate buffer, pH 7.0 (磷酸鈉緩衝液)	Inhibitor (100 mM) (抑制劑)	β -lactamase enzyme (β - lactam 酶)	Distilled water (蒸餾水)
1	1.48 ml	-	20 μ l	-
2	1.46 ml	20 μ l	20 μ l	-
3	1.44 ml	40 μ l	20 μ l	-
4	1.42 ml	60 μ l	20 μ l	-
5	1.40 ml	80 μ l	20 μ l	-
6	1.38 ml	100 μ l	20 μ l	-
Blank空白管	1.43 ml	50 μ l	-	20 μ l

- II. 均勻混合上述混合液，並於室溫中靜置 5 分鐘。你可以使用牆上的掛鐘或手錶計時。
- III. 在每支試管中加入 1ml 盤尼西林 G(0.54mM)，均勻混合，並於室溫中靜置 10 分鐘。
- IV. 在每支試管中加入 1.5ml 硫酸銅-新氧化銅溶劑，均勻混合，並於室溫中靜置 5 分鐘。
- V. 在每支試管中加入 100 μ l 鹽酸停止反應進行，鹽酸加入後需均勻混合。
- VI. 將比色計波長設於 465nm。
- VII. 利用空白比色管將吸光值歸零。
- VIII. 分別測量 1 至 6 號試管的吸光值。**每一個吸光值都必須獲得監試人員確認。舉起你的黃牌，請監試人員確認。**

表 1.A.1.

Test tube (試管)	Absorbance (吸光值)
1	
2	
3	
4	
5	
6	

(待續)

轉載自：中華民國生物奧林匹亞委員會網站 National Biology Olympiad, Taiwan, R.O.C

<http://www.ibo.nsysu.edu.tw/>