

生物

Biology Search

搜查線

第21期

COVER STORY

專案特搜 1

**病毒也要抵抗病原體？
——從病毒與細菌的免疫
看生物的界定 P.2**

數位e秘技

**應用實例——線上即時
回饋系統 Kahoot !
的教學 P.7**



本刊物電子檔

#1



55501N/D/0000000

專案特搜 ①



病毒也要抵抗病原體？ ——從病毒與細菌的 免疫看生物的界定

建國中學 / 教師 魏宏仁

最近許多科普期刊陸續報導細菌與病毒的免疫機制，跟高中生物課程也有不少相關，因此本文我們將介紹其應用與爭議，提供給教學現場的老師參考。

細菌、病毒常入侵生物，造成生物感染許多疾病，然而科學家發現即便是細菌也會受病毒的入侵，能感染細菌的病毒又稱為噬菌體(bacteriophage)，其種類非常多樣，根據研究其豐富性可能為細菌的10倍以上。近年來科學家發現就連病毒本身也不能倖免受病原體的影響，有些病毒顆粒也會危害病毒，稱為噬病毒體(viophage)。

細菌如何抵抗病原體？

原核生物發展了很多免疫機制以對抗噬菌體的入侵，高中生物課本中有提到細菌可利用限制酶辨識具特定特徵的DNA序列，然後利用其上的核酸內切酶將外來的噬菌體DNA切斷。關於限制酶的作用高中課程已有很多資料不再贅述。

除了上述限制酶的作用之外，近年來科學家發現很多原核生物（包含約40%的細菌與90%的古菌）也可利用CRISPR/Cas系統(clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated proteins)切除特定的噬菌體

DNA，CRISPR可簡單翻譯為「叢聚規律間隔短迴文重複序列」這拗口的名稱，而Cas則為CRISPR相關蛋白的意思。CRISPR區段含有三個單位（圖1），包含有前導區(leader)、重複序列(repeats)及間隔序列(spacers)。前導區富含A、T鹼基，長度約為數百個鹼基對，具有啟動子等功能；重複區為含有約23~55個鹼基對的「短迴文重複序列」(short palindromic repeats)，這些短迴文重複序列被含有約21~72個鹼基對的「間隔序列」(spacers)規律的分隔開來；另外，cas基因通常臨近CRISPR區域，包含cas1至cas10等許多類型，cas基因的多種Cas蛋白質產物可組成一個複合體，包含有核酸內切酶、RNA結合蛋白及解旋酶等多種功能。

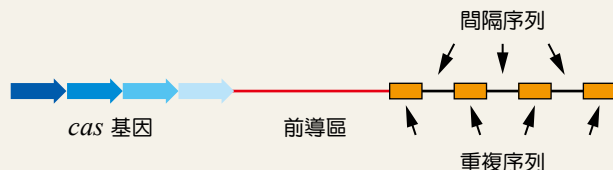


圖 1 CRISPR-Cas系統的相關結構。

- (1)前導區(leader)具有CRISPR的啟動子。
- (2)間隔序列(spacers)約有21~72個鹼基對，為外來的病毒DNA片段經嵌入而來。
- (3)重複序列(repeats)具有約23~55個鹼基對的短迴文重複序列。
- (4)cas基因含有許多種類，可組成蛋白質複合體，含有解旋酶、RNA結合蛋白及核酸內切酶等功能。



科學家認為CRISPR-Cas系統（圖2）是細菌的專一性免疫(adaptive immunity)，因為細菌會先經由Cas1及Cas2蛋白協助，將先前遭遇過的病毒DNA片段（位在病毒的DNA片段稱為原間隔序列；protospacer）嵌入到自身DNA的CRISPR區段內，形成間隔序列(spacers)。換言之，間隔序列其實就是病毒身上的DNA碎片預先被存檔在細菌基因體的CRISPR區段上，下次若遇到同樣的病毒，再轉錄CRISPR內的DNA片段形成crRNA（CRISPR RNA又稱為crRNA），crRNA因有部分序列轉錄自短迴文重複區，因此crRNA部分區域容易互補形成髮夾狀結構，此結構有助於其與Cas蛋白複合體組合，而crRNA因為有部

分核苷酸序列是病毒DNA片段的轉錄本，因此可與入侵的病毒DNA片段互補，藉此抓到病毒的DNA，接著可利用Cas蛋白複合體上面的核酸內切酶將病毒DNA切斷，以抵抗病毒的入侵。

CRISPR-Cas目前又可分為三種類型（type I、type II及type III），每種類型所含cas基因都有些不同，作用的機制也稍有不同。例如：type II的crRNA需要一種稱為tracrRNA(trans encoded crRNA)與Cas蛋白複合體的協助才可以有作用；而type I及type II除了依靠crRNA辨識外來的病毒片段之外，還需要病毒DNA具有一種稱為PAM(protospacer adjacent motif)的短核苷酸鏈作為辨識位置才能精確的切割病毒DNA，PAM

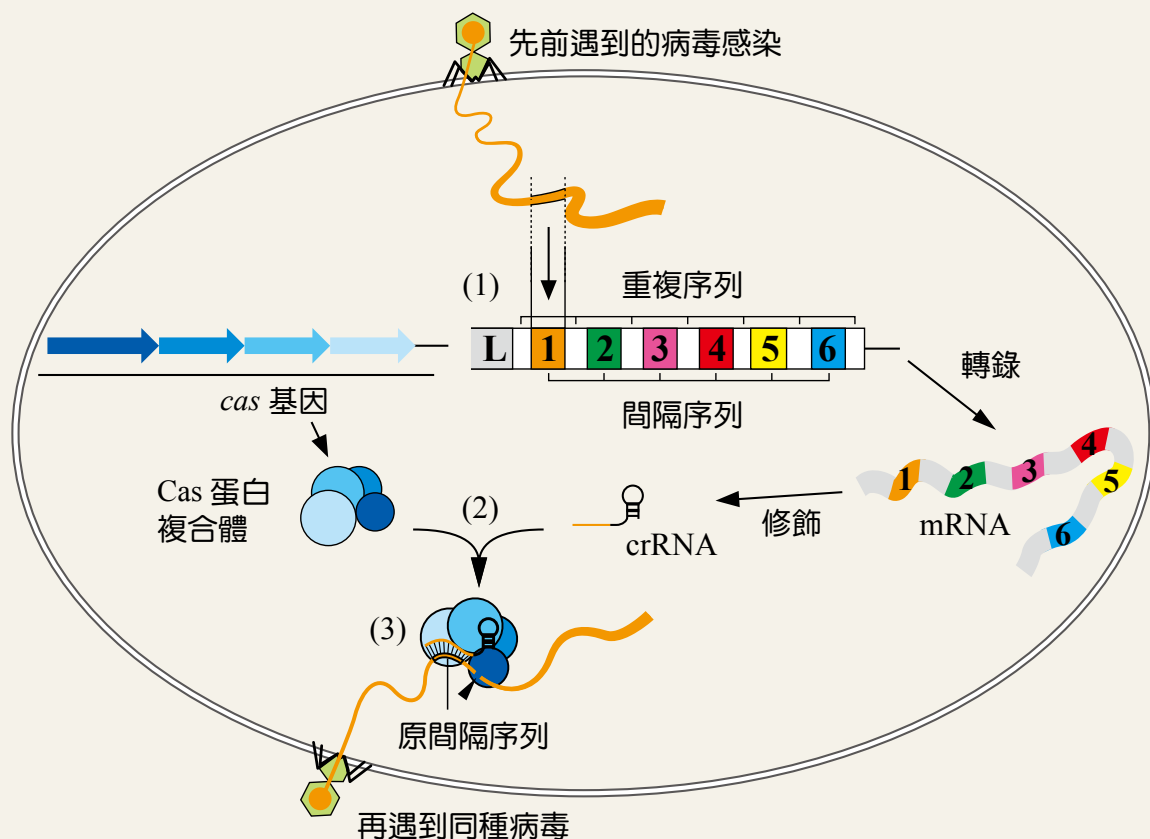


圖2 細菌的CRISPR-Cas系統。

藍色箭頭：cas基因。L：前導區(leader)。有顏色的方塊1~6：間隔序列(spacers)。

白色方塊：重複序列(repeats)。

(1)細菌將先前遇到的病毒DNA片段（橘色的DNA片段），嵌入到其CRISPR區域形成間隔序列(spacers)（橘色的方塊）的一員。

(2)遭遇到同種病毒後，可轉錄出mRNA並修飾成為crRNA，crRNA可與Cas蛋白複合體結合。

(3)Cas蛋白複合體上的crRNA與同一種病毒DNA的片段（又稱為protospacer）互補後，可利用Cas蛋白複合體上的核酸內切酶將外來病毒DNA切斷。

是緊接在病毒DNA上的原間隔序列之後約2~6個鹼基的序列，可以被Cas蛋白複合體上的核酸內切酶辨識並切割其後的DNA，例如：Cas9專門辨識5'-NGG-3'，並在緊鄰5'-NGG-3'後的幾個鹼基位置切斷核苷酸鏈。在typeI及typeII的CRISPR-Cas系統上，病毒DNA的PAM非常重要，是細菌用來區隔病毒與自身不同的一段序列，細菌的CRISPR區段裡沒有PAM，所以不會被自己的Cas蛋白切割。

上述細菌抵抗病原體的機制的發現也促進了生物技術的發展，限制酶從1950年代發現，至今應用在基因轉殖等技術已經發展成熟，而近年來CRISPR-Cas系統用在基因的編輯較限制酶相關技術精準與快速，往後對生物的基因改造及研究應用將更為便利。

病毒如何抵抗病原體？ ——大型病毒與生物的關係

談完了細菌的免疫，我們再回過頭來看看，前文曾提到病毒也會受到噬病毒體的影響，噬病毒體可以趁病毒在細胞中進行組裝時，利用病毒組裝時所需的相關蛋白質與胞器（又稱為病毒工廠）（圖3A）組裝自身的顆粒，因此會干擾病毒的組裝，影響病毒後代的形成。

噬病毒體的寄主通常是一類大型的病毒，稱為核質巨DNA病毒(nucleo-cytoplasmic large DNA virus, NCLDV)，他們直徑大小可達0.4~1微米，幾乎與細菌一般大，常見種類包含：擬菌病毒(*Mimivirus*)（圖3B）、媽媽病毒(*Mamavirus*)及潘朵拉病毒(*Pandoravirus*)等，而這些大型病毒主要的寄主則是阿米巴原蟲(*Amoebae*)等生物。

核質巨DNA病毒的DNA也比一般病毒大且複雜很多，相對於一般病毒如小兒麻痺病毒約只有7500個鹼基對，潘朵拉病毒基因體含有約 $1.9\sim 2.5\times 10^6$ 個鹼基對、擬菌病毒含有約 1.2×10^6 個鹼基對，它們的基因體內含有轉錄與轉譯相關基因，只是缺乏核糖體，因此需藉助細胞中的核糖體才可以進行病毒顆粒的合成。由於這些巨型病毒的複雜性，有些科學家提出退化假說(regressive, or reduction hypothesis)，認為病毒可能起源於古代細胞之間的共生關係，共生細胞的一方漸漸轉變成寄生關係，並且漸漸丟失了一些基因，使其關係成為需完全依賴另一方細胞的專一性寄生關係，而成為了病毒。

最近法國馬賽大學的科學家李維斯等人(Levasseur et. al., 2016)研究一種噬病毒體(Zamilon, 鄰居噬病毒體)對擬菌病毒的影響，發現有些擬菌病毒可以抵抗鄰居噬病毒體，他們進一步利用基因定序技術，發現這些擬菌病毒似乎具有類似於細菌的CRISPR-Cas系統，李維斯等人將其稱為「擬菌病毒-噬病毒體抵抗單元」(MIMIVIRE; mimivirus virophage resistance element)。他們懷疑擬菌病毒具有的三個基因(編號R349, R350, R354)可能是擬菌病毒-噬病毒體抵抗單元的相關基因，因此他們利用基因沉默技術分別使這三個基因不能表現，然後將擬菌病毒與鄰居噬病毒體共同培養在其寄主阿米巴原蟲(*Acanthamoeba polyphaga*)的培養基內，藉此觀察擬菌病毒抵抗鄰居噬病毒體的狀況，實驗分別記錄了0、24及48小時的變化，跟控制組（正常的擬菌病毒）比較發現24及48小時後基因不能表達的擬菌病毒無法抵抗鄰居噬病毒體的影響，而控制組則可以（圖4）。

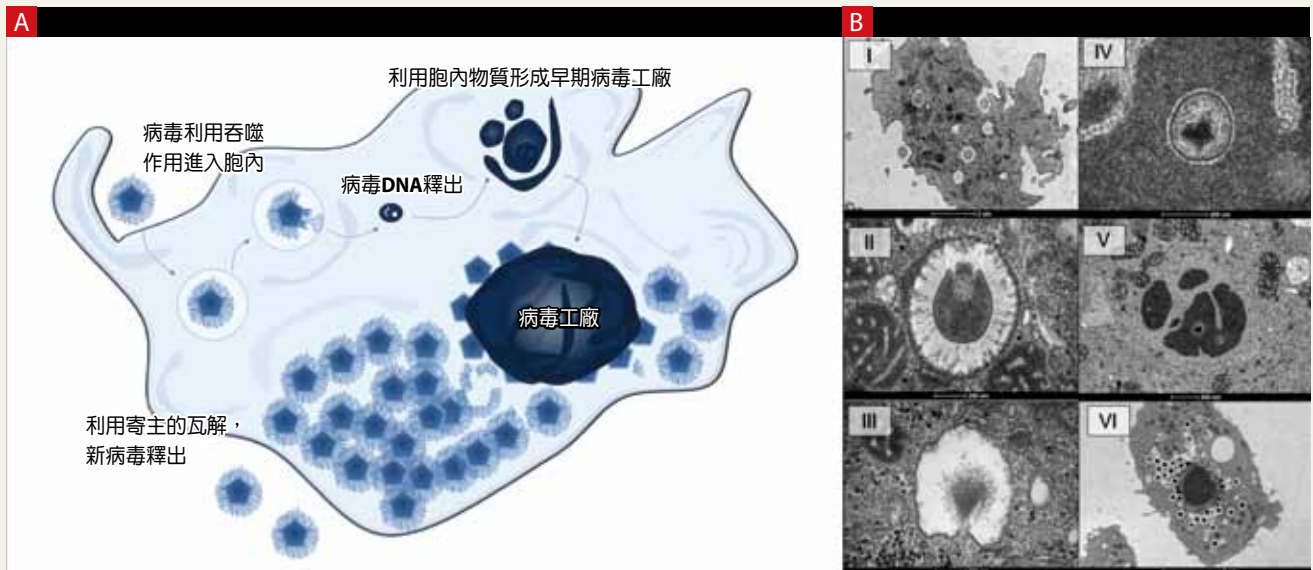


圖3 擬菌病毒在細胞中複製與其電子顯微鏡照圖。
A. 擬菌病毒在細胞中利用病毒工廠組裝其病毒顆粒。
B. 擬菌病毒顆粒的電子顯微鏡照圖。

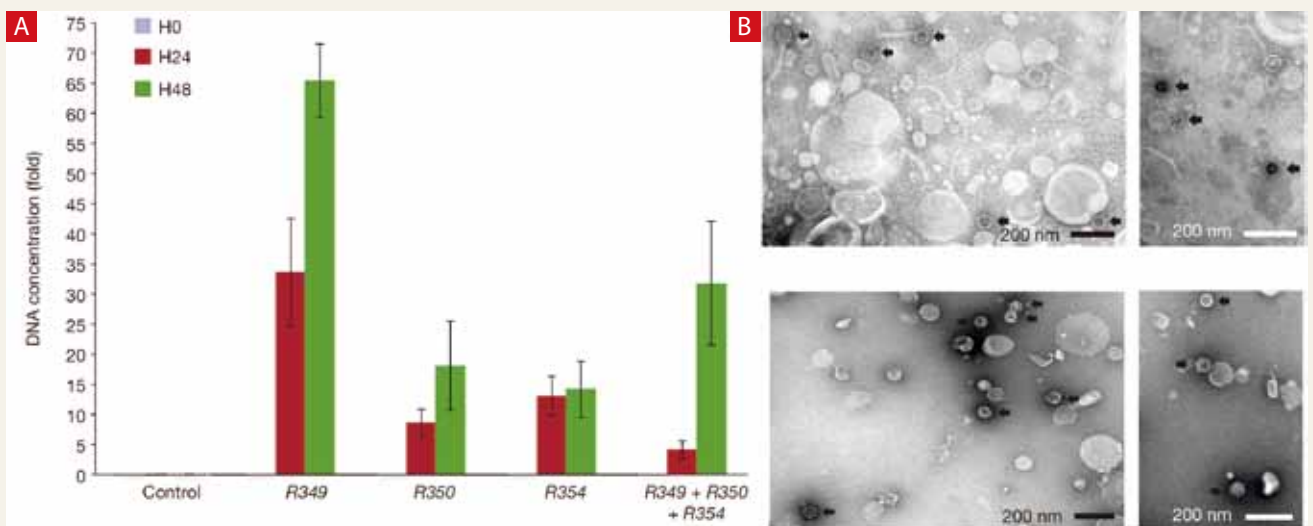
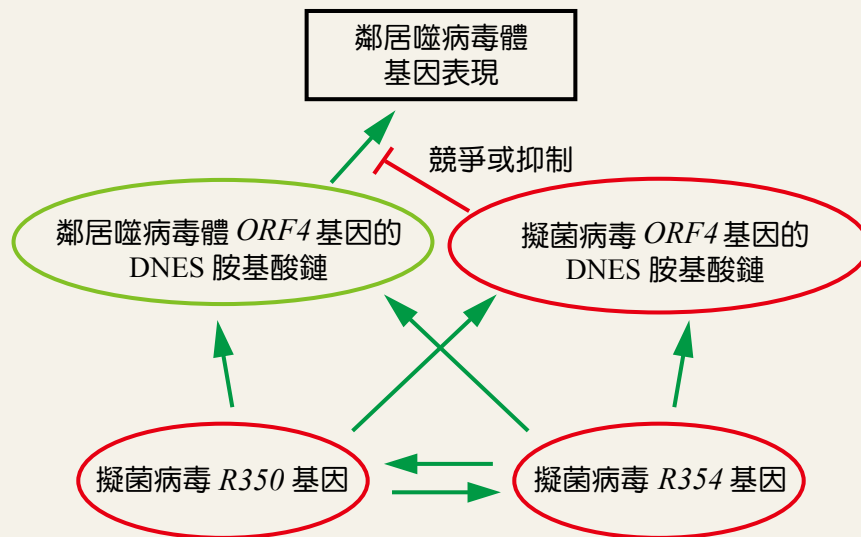


圖4 三組基因實驗結果與噬病毒體的顯微鏡照圖。
A. R349、R350、R354三組基因沉默後鄰居噬病毒體的增長狀況與控制組的比較。可發現控制組的鄰居噬病毒體沒有生長，而R349、R350、R354基因沉默組則均有明顯增長。
B. 48小時後鄰居噬病毒體個體的增長電子顯微鏡圖，箭頭表示鄰居噬病毒體顆粒。

上述發現引起科學家的重視，因為就連病毒也具有類似於細菌的專一性免疫系統，是否意味著我們對「生命」的看法該重新檢視？事情並沒有那麼單純。同樣是馬賽大學的科學家克拉維里等人(Claverie and Abgerl, 2016)則認為李維斯等人的研究不夠嚴謹且尚無足夠的直接證據可證實，他們認為擬菌病毒-噬病毒體抵抗單元可能不是類似細菌的CRISPR-Cas系統，而是一種蛋白質交互作用的系統（圖5）。克拉維里等人發現擬菌病毒的R349基因與鄰居噬病毒體的一個ORF4基因有部分序列一樣（約15個核苷酸），這15個核苷酸可以表達出一段短胺基酸鏈：DNES（即Asp-Asn-Glu-Ser），他們認為R349基因的產物DNES也許可以透過某種競爭或

不明的機制，以抑制鄰居噬病毒體ORF4基因的表現，而R350及R354則是各種複製及調節所需的相關蛋白，可促進R349蛋白的形成及噬病毒體的複製等，因此這三個基因不能作用當然可導致其無法抑制鄰居噬病毒體。

雖然這爭議還沒有落幕，但科學的發展即是如此，對於新的發現產生懷疑，提出不同的假說，而後續需要有更多的實驗來驗證這些假說的正確性。不管如何，目前可以確定的是有些擬菌病毒確實可以抑制鄰居噬病毒體，經過研究之後，這些以前我們認為簡單、非生命的病毒顆粒，卻具有如此的複雜性，也衝擊了過往我們對生命與非生命的看法。



▲ 圖5 噬病毒體的蛋白質交互作用系統。
擬菌病毒R349基因產生的DNES胺基酸鏈可能藉由競爭或其他機制抑制ORF4基因的表現。
R350與R354基因則與蛋白質的複製及調節相關。

參考資料

1. Marraffini, L. J. 2015. CRISPR-Cas immunity in prokaryotes. *Nature* 526, p55-62.
2. Abrahao, J. S. et. al. 2014. Acanthamoeba polyphaga mimivirus and other giant viruses: an open field to outstanding discoveries. *Virogy Journal* 11:120, p1-12.
3. Levasseur, A. et. al. 2016. MIMIVIRE is a defence system in mimivirus that confers resistance to virophage. *Nature* 531, p249-252.
4. Claverie, J. M. and C. Abergel. 2016. CRISPR-Cas-like system in giant viruses : why MIMIVIRE is not likely to be an adaptive immune system. *Virologica Sinica* 31(3), p193-196.
5. Gaia, M. et. al. 2014. Zamilon, a novel virophage with mimiviridae host specificity. *PLos ONE* 9(4): e94923.
6. Makaanova, K. S. et al. 2011. Evolution and classification of the CRISPR-Cas systems. *Nature Rev. Microbiol.* 9 p467-477.



數位e秘技



應用實例

線上即時回饋系統 Kahoot!

的教學

國立臺南大學附屬高級中學 / 教師 戴振堯

前言

有別於傳統的單向傳授模式，IRS 即時反饋系統（簡稱「按按按」）能讓教師在教學中立刻掌握學生學習情況，發覺學生學習問題，即時給予學生回饋，同時調整自我教學內容，進行教學反思。但是 IRS 即時反饋系統在應用上最大的障礙就是設備昂貴，隨著科技的發展、智慧手機和網路的普及，手機在線上即時回饋系統的教學應用可能性大大提升，Kahoot! 就是其中一款極具趣味性的系統，可以透過電腦、手機、平板進行操作（圖 1），使用過程中搭配令人緊張的音

效和倒數計時，呈現類似電視益智競賽的效果，並且能將學生答題結果即時呈現，若運用得宜，可以為枯燥沉悶的教學過程帶入一些歡樂氣氛，提高學生學習興趣。

工具介紹

Kahoot! 在使用上非常簡單，只要在 Google 搜尋 Kahoot，就會出現如圖 2 的搜尋結果，學生只要點擊第一個連結就可以進入遊戲操作畫面，不需安裝 APP；老師則是點擊第二個連結進行题目的設計與操作。網路上有許多關於



圖 1 Kahoot! 畫面與使用者介面

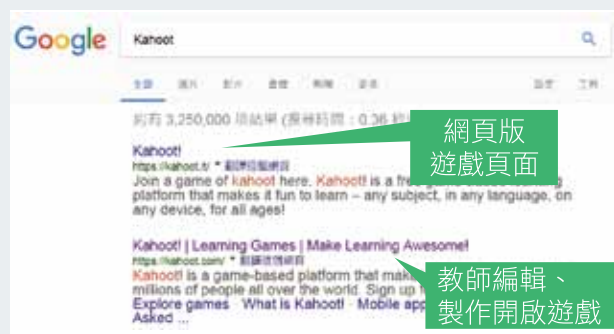


圖 2 Google 搜尋 Kahoot 的結果

Kahoot! 的教學與經驗分享，因此本文並不著重於 Kahoot! 的使用教學，而是著眼在教學上應用的實例、困境和解決方案。

教學上應用的困境與解決方案

其實不只是 Kahoot!，許多將手機、電腦運用於教學的方式，常會遇到兩個難題，分別是：

【困境一】

手機數量不足，學生並非人手一支手機，借用電腦教室也不方便。

【解決方案】

利用分組方式進行教學，大約 2～4 人為一組，共用一支手機，並以團隊總分作為該組得分，除了解決機器數量不足問題外，可以訓練學生的團隊合作默契，增加課堂討論氣氛。

【困境二】

學生沒有網路可用，學校無線網路密碼又不能輕易提供給學生。

【解決方案】

多數校園內隨處皆可無線上網，但老師卻不能將帳號、密碼隨意提供給學生使用，若給了學生，就需要每次更換密碼，相當麻煩。其實只需要一臺「無線訊號延伸器」就能解決問題，其原理是接收來自無線分享器的訊號，然後再做為另一個無線基地臺，將訊號再分享出去，因此可以設定專屬的帳號、密碼（圖 3），學生透過連接延伸器上網，不須使用學校無線網路的帳號上



圖 3 無線訊號延伸器與操作原理

網。由於無線延伸器尺寸不大，可以方便地隨插即用，帳號、密碼提供給學生也不需修改，只要將它拔除，學生就無法使用網路了，老師可以很方便地操控網路。

教學應用實例

筆者運用 Kahoot! 在教學上進行了兩項的應用，其一是取代原有的紙筆測驗，「以 Kahoot! 進行總結性評量」，其二是「以 Kahoot! 辦理校內科學益智競賽」，分述如下。

以 Kahoot! 進行總結性評量

利用 Kahoot! 進行評量的方式，根據教學目的不同，可分為：

1. 在教學前進行，作為引起動機之用。
2. 穿插於教學中，作為即時評量之用。
3. 在教學後進行，作為總結性評量。

為了取代傳統的紙筆測驗，筆者選擇在教學後進行總結性評量，試題內容則是挑選高中基礎物理課程中，學生在國中已經學過，但內容較為沉悶的單元，捨棄傳統講授式課程，改將教學內容直接以評量方式進行，能夠激發學生複習舊知識，並引起學生思考和學習的動力。筆者的評量方式如下：

1. 測驗範圍：高一基礎物理（一）全
3-1 物體運動的軌跡
2. 測驗題數：16 題
3. 測驗時間：30 分鐘
4. 測驗方式：3 人為一組，共用一支手機
5. 計分方式：Kahoot! 可將各組得分輸出至 excel 檔，教師可以自行定義計分方式，直接進行分數的統計分析。筆者是將該次測驗中全班所得最高分定義為 100 分，其餘組別分數則以等比例方式進行轉換。例如：A 組得最高分為 x 分，B 組得分為 y 分，則 A 組為 100 分，B 組為 $y/x \times 100$ （分）。



6. 注意事項：

- (1) 前導練習題：教師應設計一組簡易的題目讓學生練習，待熟悉操作方式後，再進行評量。
- (2) 題目難易度：命題應以計算較少、適合在短時間內回答者為佳，例如：運動物理量的時間函數圖、簡單的物理量計算、觀念題…等等，可以直接從上課教材的範例、類題中挑選，直接省去上課講解題目的時間。
- (3) 測驗公平性：分組評量過程，組員間需要進行討論，教師應在評量前訂定規範和違規罰則，要求學生降低討論音量，以免各組之間有作弊情形。
- (4) 即時回饋：某一題結束時，教師可根據答對率和答錯選項，進行即時的解說，效果類似檢討考卷，但比傳統紙筆測驗更能夠發現學生的問題所在，對症下藥。
- (5) 手機穩定性：部分手機可能在評量進行過程中突然斷線，教師須針對此問題進行事前宣導，包含分數計算方式，以後問題發生後的爭議。由於 Kahoot! 會將各組的答案進行記錄，因此若有斷線情形，請同學儘速重新登錄，分數仍可加總。

利用 Kahoot! 進行評量在執行上難度並不高，卻能為教學過程注入一支精神振奮劑，一些平時打瞌睡的學生，都能積極熱烈地參與討論

(圖 4)，並在老師即時回饋的檢討過程中認真聽講，反思自己學習的迷思和錯誤觀念，因此建議老師不妨在學期中安排幾次不同的評量方式，來增進課堂樂趣和學習成效。



圖 4 Kahoot! 分組評量時，學生專注投入的神情

以 Kahoot! 辦理科學益智競賽之實例分享

在高中階段常見的校內科學競賽，例如：遠哲科學競賽校內賽、學科能力競賽、校內科展等等，有些需要動手操作，有些則是紙筆測驗，這些科學競賽在執行上往往會有下列的難處：

1. 參賽學生需要具有較好的相關學科知識，且需投入大量的時間準備和練習。對於程度較差的學生，或者是時間無法配合的學生而言，參加科學競賽似乎是件不可能的事。
2. 指導老師時間無法配合，因此參賽學生需要具備較積極的學習態度去尋找資料和資源。
3. 辦理競賽的老師需要花費許多時間規劃賽事、借用場地設備、申請經費、準備材料、訓練志工、申請公假，競賽後還須場地復原、歸還設備、辦理學生嘉獎、印製獎狀、核銷經費等等，造成老師辦理競賽的意願低落，若沒有行政人員的支援和配合，競賽辦理將會窒礙難行。

因此，筆者嘗試利用 Kahoot! 辦理比較簡單易行的校內科學競賽，期望能透過較低的參賽門檻和有趣的競賽方式，讓學生都有機會參加科學性質的競賽。老師若有心想要推動校內科學競賽，增進科學的風氣，不妨可以參考。雖然參賽門檻不高，但是辦理競賽的細節很多，如何規劃一個公平可行的競賽，相關規劃不可馬虎，茲將辦理經驗分述如下：

1. 賽前工作項目：

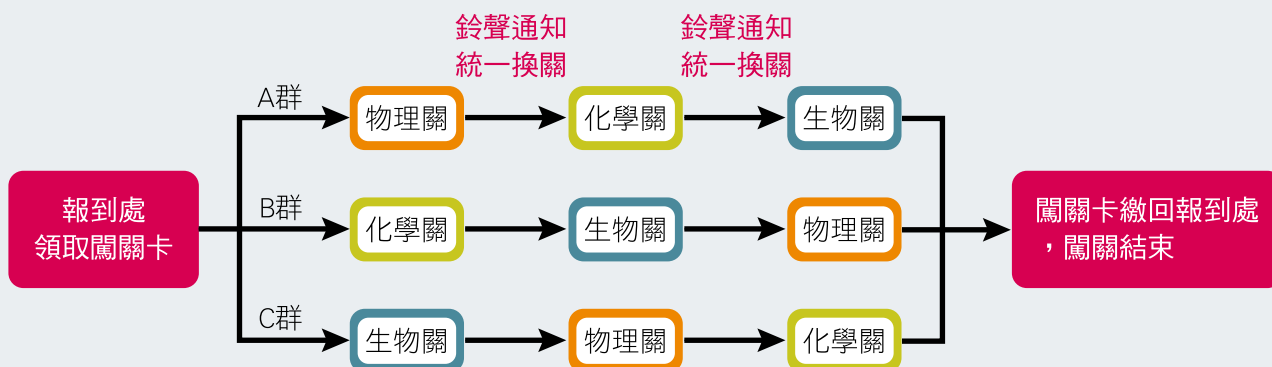
撰寫活動計畫	計畫內容應規劃競賽的時程（報名、說明會、比賽）、競賽地點、報名方式、獎項、所需經費等。
關卡設計	邀請校內自然科教師共同參與，增加競賽內涵的豐富度，分別於三間實驗室，開設物理、化學和生物三個關卡，由三位老師命題、擔任關主，並在過程中進行解說，增加競賽的知識性。
行政支援	協調設備組支援，在各實驗室安裝臨時無線基地臺，並提供競賽時所需資訊處理的電腦、記錄用相機、統計資料用隨身碟等等。
志工訓練	報名、報到、成績統計、攝影志工共 4 人，各關卡志工至少 1 人，進行競賽規則和工作項目訓練。
校內宣傳	印製大型海報和班級傳單，委請自然科教師於任課班級宣傳。
公假申請	志工學生與參賽學生均須在競賽前完成公假申請。
場地整理與網路測試	每個關卡同時有 30 個學生進行比賽，需事前規劃座位，避免擁擠和作弊。網路訊號和電腦系統是否穩定，也需事先確認。

2. 競賽時程與建議：

報名	● 方案 1：利用 google 表單設計線上報名。 ● 方案 2：以紙本報名，委請志工學生作為報名窗口
賽前說明會	● 競賽事宜雖然已經詳列於競賽辦法中，但仍建議於賽前請各組指派一員參加競賽說明會，可減少競賽當天的突發狀況，導致賽程延誤。 ● 完成報名的隊伍在競賽前一週需參加說明會，內容主要是交代競賽方式、競賽流程、計分方式，和競賽注意事項。（圖 5）
競賽	● 競賽時間安排於月考後的綜合活動課期間，並與社團活動錯開，可以增加學生報名意願。 ● 競賽時間僅兩小時，須完成報到和三個關卡，競賽流程說明如下。

3. 競賽流程設計：

學生以三人為一組進行闖關，全部 30 組（共 90 個學生）等分 A、B、C 三群，分散至三個關卡闖關，每個關卡每次只會有 10 組（共 30 個學生），可避免空間不足的問題。各關卡在競賽結束後，需等待其他關卡完成後，才由鈴聲通知統一換關卡，避免關卡外有其他參賽隊伍逗留，或是學生在關卡轉換過程交換情報，影響競賽公平性。





4. 計分方式：

30 組的學生雖然不是全部在同一時間參加同一關卡競賽，但是題目相同，因此同一個關卡的 30 個分數仍然可以直接進行統計，分數轉換方式與總結性評量的計分相同，若 30 組當中最高分為 x 分，則以 x 分為 100 分，其餘組別得分為 y 分，相當於 $y/x \times 100$ (分)。再將物理、化學和生物關卡的分數加總，即為該組得分。



圖 5 競賽說明會（指導老師張銘傑）



圖 6 競賽過程（化學關卡指導老師鄭伊真）

5. 賽後工作項目：

場地復原	借用設備歸還，實驗室整理。
統計與公告	依據前述計分方式進行統計後公告。
獎勵	- 志工與參賽學生、得獎學生依據狀況分別給予獎勵或獎金。 - 印製獎狀頒予得獎學生。 - 辦理競賽的教師應給予適度的行政獎勵。
經費核銷	競賽須使用經費的項目較少，除了評審老師的鐘點費之外，大多是文具用品和印刷用品，沒有使用其餘的耗材，準備競賽和經費申請、核銷相對簡單。
檔案彙整	包括照片、簽呈、活動計畫、簽到單等等，都需詳加整理，作為經費核銷的依據，以及未來評鑑之用。

結語

所謂「戲法人人會變，巧妙各有不同」，筆者所分享的評量和競賽辦理，老師可依據教學目標設定不同的方式、流程和評量，或者是使用不同的即時回饋系統，但共同的理念都是想要為教學注入不同的元素，讓教學更多元、更豐富、更有效，因此老師在設計題目時，必須要多加費心，使評量、競賽能更具有知識性和教育意義，讓科學教育不只是少數菁英的專利，讓更多學生都能感受到科學學習的樂趣，在學生心中埋下一顆科學的種子，生長出無限的可能。

圖片來源

數位 e 秘技：戴振堯老師

林口康橋 登記中

為孩子打開通往世界的大門



林口康橋開學資訊

- 幼兒園預計於106學年度（2017年9月）開學。
- 小學、國中、高中預計於107學年度（2018年9月）開學。

諮詢專線

- 幼兒園 (02) 8195-8866
- 小學~高中 (02) 8195-2022、(02) 8195-2033



欲參加
課程說明會
立即掃描



最新消息
都在LINE@



康橋 KANG CHIAO BILINGUAL SCHOOL
雙語學校