答: SD 序列是指信使核糖核酸(mRNA)翻译起点上游与原核 16S 核糖体 RNA 或真核 18S rRNA 3′端富含嘧啶的 7核苷酸序列互补的富含嘌呤的 3~7个核苷酸序列(AGGAGG),是核糖体小亚基与 mRNA 结合并形成正确的前起始复合体的一段序列。功能: SD 序列对 mRNA 的翻译起重要作用。

7, 核糖体有哪些活性中心?

答:核糖体包括多个活性中心,即 mRNA 结合部位、结合或接受 AA-tRNA 部位,结合或接受肽酰-tRNA 部位,肽基转移部位及形成肽键的部位,此外还有负责肽链延伸的各种延伸因子的结合位点。

8, 真核生物与原核生物在翻译起始过程中有哪些区别?

答:原核生物的起始 tRNA 是 fMet-tRNA,真核生物是 Met-tRNAMet。原核生物中 30S 小亚基首先与 mRNA 模版相结合,再与 fMet-tRNA 结合,最后与 50S 大亚基结合。而在真核生物中,40S 小亚基首先与 Met-tRNAMet 相结合,再与模版 mRNA 结合,最后与 60S 大亚基结合生成 80S.mRNA.Met-tRNAMet 起始复合物。

9, 链霉素为什么能够抑制蛋白质的合成?

答:链霉素是是一种氨基葡萄糖型抗生素,分子式 C21H39N7O12,可以多种方式抑制原核生物核糖体,能干扰 fMet-tRNA 与核糖体的结合,从而阻止蛋白质合成的正确起始,也会导致 mRNA 的错读。

10, 什么是信号肽?它在序列组成上有什么特点?有什么功能?

答:绝大部分被运入内质网腔的蛋白质都带有一个信号肽,该序列常常位于蛋白质的氨基端,长度一般都在 13-16 个残基,有如下三个特征: 1,一般带有 10-15 个疏水残基; 2,在靠近该序列 N 端常常带有一个或者数个带正电荷的氨基酸; 3,在其 C 端靠近蛋白酶切割位点处常常带有数个极性氨基酸。功能:完整的信号肽是保证蛋白质转运的必要条件。

11, 简述叶绿体蛋白质的跨膜运输机制。

答: 1,活性蛋白水解酶位于叶绿体基质内; 2,叶绿体膜能够特异性的与叶绿体蛋白的前体结合; 3,叶绿体蛋白质前体内可降解序列因植物和蛋白质种类不同而表现出明显的差异;

12,蛋白质有哪些翻译后的加工修饰?

答: 1、氨基端和羧基端的修饰; 2.共价修饰: 磷酸化、糖基化、羟基化、二硫键的形成; 3.亚基的聚合; 4.水解断链, 切除新生肽中非功能片段。

13, 什么是核定位序列? 其主要功能是什么?

答:核定位序列:蛋白质的一个结构域,通常为一短的氨基酸序列,它能与入核载体相互作用,使蛋白能被运进细胞核。在绝大多数多细胞真核生物中,每当细胞发生分裂时,核膜被破坏,等到细胞分类完成后,核膜被重新建成,分散在细胞内的核蛋白必须被重新运入核内,为了核蛋白的重复定位,这些蛋白质中的信号肽----被称为核定位序列。

第五章

分子生物学的研究方法(上)

1,哪些重要的科学发现和实验推动了DNA 重组技术的产生和发展?

答: 1, 确定遗传信息的携带者是 DNA 而不是蛋白质; 2, DNA 的双螺旋结构模型和

半保留复制机制的提出; 3,中心法则,操纵子学说的提出和密码子的破译; 4,重组工具酶的发现; 5,运载体重组质粒的发现。

2, 如何理解 PCR 扩增的原理和过程。

答:原理: DNA 在高温时也可以发生变性解链,当温度降低后又可以复性成为双链。因此,通过温度变化控制 DNA 的变性和复性,并设计引物做启动子,加入 DNA 聚合酶、dNTP 就可以完成特定基因的体外复制。

过程: 1,变性,将 DNA 在临近沸点的温度下加热使变性,双链打开; 2,退火,引物与模版的相结合; 3,链的延伸, DNA 合成。

3, 简述定量 PCR 的原理和过程。

答:实时定量 PCR 反应在带透明盖的塑料小管中进行,激发光可以直接头孤傲管盖,使其中的荧光探针被激发。

- 一逛探针事先混合在 PCR 反应液中,只有与 DNA 结合之后,才能被激发发出荧光。随着新和成 DNA 片段的增加,结合到 DNA 上的荧光探针,即被激发产生的荧光增加。
- 4,基因组 DNA 文库和 cDNA 文库在构建原理和用途上的主要区别是什么? 答:基因组 DNA 是把某种生物的基因组 DNA 切成适当大小,分别与载体结合,导入微生物细胞形成克隆。应用:主要用于基因组作图、测序和克隆序列的对比。 cDNA 文库是以 mRNA 为模版反转录而成的序列,与适当的载体(常用噬菌体或质粒载体)连接后转化受体菌,则每个细菌含有一段 cDNA,并能繁殖扩增。

应用: 筛选目的基因、大规模测序、金银芯片杂交等功能基因组学的研究。

- 5, 基因克隆的方法主要有哪几种? 简述各种方法的作用和用途。
- 答: 1, RACE 技术,用于在已知 cDNA 序列的基础上克隆 5'端和 3'端缺失的序列; 2, 应用 cDNA 差示分析法克隆 基因,在没有任何探针的情况下,通过降低 cDNA 群体复杂性和更换

cDAN 两端接头的方法特异性的扩增目的基因片段。3, Gateway 大规模克隆技术,用于实现不需要传统的酶切连接过程的基因快速克隆和载体间平行转移,为大规模克隆基因组注视的可译框架提供保障;4,基因的图位克隆法,用于分离未知形状目的基因。

- 6, 在基因操作实践中有哪些检测核酸和蛋白质相对分子质量的方法?
- 答:核酸凝胶电泳、蛋白质 SDS-PAGE
- 7,蛋白质组学的研究对象和目的是什么?主要有哪些技术和方法。
- 答:研究对象:某遗物种、个体、器官、组织或细胞在特定条件、特定时间所表达的全部蛋白质图谱。技术:双向电泳技术、蛋白质印迹法、蛋白质的质谱分析技术
- 8, SNP 作为第三代遗传标记的优点是什么?
- 答: (1) SNPs 在基因组中的相对高频分布,非常适合用于关联分析。
 - (2) SNP 在人群中是二等位基因性的,在任何人群中其等位基因频率都可估计出来;
 - (3) 与串联重复的微卫星位点相比,SNP 是高度稳定的,尤其是处于编码区的SNP(cSNP)
- , 而前者的高突变率容易引起对人群的遗传分析出现困难;
- (4) 部分位于基因内部的 SNP 可能会直接影响产物蛋白质的结构或基因表达水平,因
- 此,它们本身可能就是疾病遗传机制的候选改变位点;
 - (5) 易于进行自动化、规模化分析,缩短了研究时间。
- 9, 基因分型的方法有哪些? 简述其原理。
- 答:基因分型是利用生物学检测方法测定个体基因型的技术。又称为基因型分析,PCR基因分型技术,使用技术包括聚合酶链反应(PCR)、DNA片段分析、寡核苷酸探针(ASO probes)、基因测序、核酸杂交、基因芯片技术等。
- 10, 己知一个 cDNA3'端的部分序列,请设计实验流程得到该基因的全长 cDNA。
- 答: 1,根据已知序列设计三条巢式引物,进行 5'RACE,拿到 5'序列; 2,同时设计巢氏引物,进行 3'RACE 拿到 3'序列; 3,序列拼接;4,设计引物扩增全长序列

第七章 基因的表达与调控