

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。随着新合成 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

cDNA 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释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，已知一个 cDNA 3' 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，同时设计巢式引物，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

1. 简述代谢物对基因表达调控的两种方式。

答：① 转录水平上的调控

② 转录后水平上的调控，包括 mRNA 加工成熟水平上的调控和翻译水平上的调控

3. 简述乳糖操纵子的调控模型。

答：A、乳糖操纵子的组成：大肠杆菌乳糖操纵子含 Z、Y、A 三个结构基因，分别编码半乳糖苷酶、透酶和半乳糖苷乙酰转移酶，此外还有一个操纵序列 O，一个启动子 P 和一个调节基因 I。

B、阻遏蛋白的负性调节：没有乳糖存在时，I 基因编码的阻遏蛋白结合于操纵序列 O 处，乳糖操纵子处于阻遏状态，不能合成分解乳糖的三种酶；有乳糖存在时，乳糖作为诱导物诱导阻遏蛋白变构，不能结合于操纵序列，乳糖操纵子被诱导开放合成分解乳糖的三种酶。所以，乳糖操纵子的这种调控机制为可诱导的负调控。

C、CAP 的正性调节：在启动子上游有 CAP 结合位点，当大肠杆菌从以葡萄糖为碳源的环境转变为以乳糖为碳源的环境时，cAMP 浓度升高，与 CAP 结合，使 CAP 发生变构，CAP 结合于乳糖操纵子启动序列附近的 CAP 结合位点，激活 RNA 聚合酶活性，促进结构基因转录，调节蛋白结合于操纵子后促进结构基因的转录，对乳糖操纵子实行正调控，加速合成分解乳糖的三种酶。D、协调调节：乳糖操纵子中的 I 基因编码的阻遏蛋白的负调控与 CAP 的正调控两种机制，互相协调、互相制约。

5. 什么是弱化作用？

答：1. 当培养基中色氨酸的浓度很低时，负载有色氨酸的 tRNA^{Trp} 也就少，这样翻译通过两个相邻色氨酸密码子的速度就会很慢，当 4 区被转录完成时，核糖体才进行到 1 区（或停留在两个相邻的 trp 密码子处），这时的前导区结构是 2-3 配对，不形成 3-4 配对的终止结构，所以转录可继续进行，直到将 trp 操纵子中的结构基因全部转录。

2. 当培养基中色氨酸浓度较高时，核糖体可顺利通过两个相邻的色氨酸密码子，在 4 区被转录之前就到达 2 区，使 2-3 区不能配对，3-4 区自由配对形成基一环终止子结构，转录被终止，trp 操纵子被关闭。

第八章

1. 基因家族的分类及其主要表达调控模式

答：(1)，简单多基因家族，真核生物首先是 pre rRNA 经过特异性甲基化，然后是经 RNA 酶的切割便可产生成熟 rRNA 分子。原核生物则还要经过核酸酶降解才能产生成熟 rRNA 分子。(2)，复杂多基因家族，一般由几个相关基因家族构成，基因家族之间由间隔序列隔开，并作为独立的转录单位，可能存在具有不同专一性的组蛋白亚类和发育调控机制。(3)，发育调控的复杂多基因家族，每个基因家族中，基因排列的顺序就是他们在发育阶段的表达顺序。

2. 何为外显子和内含子及其结构特点和可变调控

答：大多数真核基因都是由蛋白质编码序列和非蛋白质编码序列组成的，编码序列称为外显子 (exon)，非编码序列称为内含子 (intron)。结构特点：一个结构基因中编码某一蛋白质不同区域的各个外显子并不连续排列在一起，而是常常被长度不等的内含子所隔离，形成镶嵌排列的断裂方式。可变调控：不少真核基因的原始转录产物可通过不同剪接方式，产生不同的 mRNA，并翻译成不同的蛋白质。另外，一些核基因由于转录是选择了不同的启动子或者在转录产物上选择了不同的 PolyA 位点而使转录产物产生不同的二级结构，因而影响剪接过程，最终产生不同的 mRNA 分子。

3DNA 甲基化对基因表达的的调控机制

答：大量研究表明，DNA 甲基化能关闭某些基因达的活性，去甲基化则诱导了基因的重新活化和表达。三种调控机制：一是 DNA 甲基化导致了某些区域 DNA 构象变化，从而影响了蛋白质和 DNA 的相互作用，抑制了转录因子与启动区 DNA 的结合效率。二是促进阻遏蛋白的阻遏作用。三是 DNA 的甲基化还提高了该位点的突变频率。

4 真核生物转录元件组成及其分类

答：启动子，转录模版，RNA 聚合酶 II 基础转录所需的蛋白质因子 (TF II)，RNA 聚合酶 II，增强子，反式作用因子

5 增强子的作用机制。

答：增强子是指能使与它连锁的基因转录频率明显增加的 DNA 序列。可能有 3 中作用机制：(1)，影响模版附近的 DNA 双螺旋结构，导致 DNA 双螺旋弯折或在反式因子的参与下，以蛋白质之间的相互作用为媒介形成增强子与启动子之间“成环”连接，活化基因转录。(2)，将模版固定在细胞核内特定位置，如连接在核基质上，有利于 DNA 拓扑异构酶改变 DNA 双螺旋结构的张力，促进 RNA 聚合酶 II 在 DNA 链上的结合和滑动。(3)，增强子区可以作为反式作用因子或 RNA 聚合酶 II 进入染色质结构的“入口”。

6 反式作用因子的结构特点及其对基因表达的调控

答：反式作用因子是能直接或间接的识别或结合在各类顺式作用元件核心序列上，参与调控靶基因转录效率的蛋白

质。这些因子有两种独立的活性：特异地与 DNA 结合位点相结合，然后激活转录。两种活性可以独立分配给特定的蛋白结构域，分别称作 DNA 结合结构域和激活结构域，两者是相分离的。它们在蛋白质的不同区域。

7 举例说明蛋白质磷酸化如何影响基因表达。

答：蛋白质磷酸化主要影响细胞信号转导进而影响基因表达。举例：在糖原代谢过程中，激素与其受体在肌细胞外表面相结合，诱发细胞质 cAMP 的合成并活化 A 激酶，后者再将活化磷酸基团传递给无活性的磷酸化酶激酶，活化糖原磷酸化酶，最终将糖原磷酸化，进入糖酵解途径并提供 ATP。（cAMP 介导的蛋白质磷酸化过程）

8 组蛋白乙酰化和去乙酰化影响基因转录的机制。

答：组蛋白乙酰转移酶和去乙酰化酶通过是组蛋白乙酰化和去乙酰化对基因表达产生影响。组蛋白 N 端尾部上赖氨酸残基的乙酰化中和了尾部的正电荷，降低了它与组蛋白的亲水性，导致核小体构象发生有利于转录调节蛋白与染色质结合的变化，从而提高了基因转录的活性。核心组蛋白 H2A, H2B, H3, H4 通过组蛋白尾部选择性乙酰化影响核小体的浓缩水平和可接近性。由于乙酰化的组蛋白抑制了核小体的浓缩，使转录因子更容易与基因组的这一部分相接触，有利于提高基因的转录活性。

9 激素影响基因表达的基本模式。

答：许多类固醇激素（如雌激素、孕激素、醛固酮、糖皮质激素和雄激素）以及一些代谢性激素（如胰岛素）的调控作用都是通过起始基因转录而实现的。靶细胞具有专一的细胞质受体，可与激素形成复合物，导致三维结构甚至化学性质的变化。经修饰的受体与激素复合物通过核膜进入细胞核与染色质的特定区域结合导致基因转录的起始或关闭。靶细胞内含有大量激素受体蛋白，而非靶细胞中没有或很少有这类受体，这是激素调节转录组织特异性的根本原因。

10 分子伴侣的分类及其影响基因表达的机制。

答：分子伴侣（molecular chaperone）是一类序列上没有相关性担忧共同功能的保守性蛋白质，它们在细胞内能帮助其他多肽进行正确的折叠、组装、运转和降解。目前认为分子伴侣至少有两类：热休克蛋白家族和伴侣素。把能与某个（类）专一蛋白因子结合，从而控制基因特意表达的 DNA 上游序列称为应答元件（response element），如热休克应答元件，这些应答元件与细胞内转移的转录因子相互作用，协调相关基因的转录。