

### 7, 什么是上升突变? 什么是下降突变?

答: 上升突变: 细菌中常见的启动子突变之一, 突变导致 Pribnow 区共同序列的同一性增加; 下降突变: 细菌中常见的启动子突变之一, 突变导致结构基因的转录水平大大降低, 如 Pribnow 区从 TATAAT 变成 AATAAT。

### 9, 大肠杆菌的终止子有哪两大类? 请分别介绍一下它们的结构特点。

答: 大肠杆菌的终止子可以分为不依赖于 p 因子和依赖于 p 因子两大类。不依赖于 p 因子的终止子结构特点: 1, 位于位点上游一般存在一个富含 GC 碱基的二重对称区, 由这段 DNA 转录产生的 RNA 容易形成发卡式结构。2, 在终止位点前面有一端由 4—8 个 A 组成的序列, 所以转录产物的 3' 端为寡聚 U。依赖于 p 因子的终止子的结构特点:

### 10, 真核生物的原始转录产物必须经过哪些加工才能成为成熟的 mRNA, 以用作蛋白质合成的模版。

答: 1, 装上 5' 端帽子; 2, 装上 3' 端多聚 A 尾巴; 3, 剪接: 将 mRNA 前体上的居间顺序切除, 再将被隔开的蛋白质编码区连接起来。剪接过程是由细胞核小分子 RNA 参与完成的, 被切除的居间顺序形成套索形; 4, 修饰: mRNA 分子内的某些部位常存在 N6-甲基腺苷, 它是由甲基化酶催化产生的, 也是在转录后加工时修饰的。

### 12, 什么是 RNA 编辑? 其生物学意义是什么?

答: RNA 编辑是指某些 RNA 特别是 mRNA 前体经过插入、删除或取代一些核苷酸残基等操作, 导致 DNA 所编码的遗传信息的改变, 使得经过 RNA 编辑的 mRNA 序列发生了不同于模版的 DNA 的变化。生物学意义: 1, 校正作用, 有些基因在突变的途中丢失的遗传信息可能通过 RNA 的编辑得以恢复; 2, 调控翻译, 通过编辑可以构建或删除其实密码子和终止密码子, 是基因表达调控的一种方式; 3, 扩充遗传信息, 能使基因产物获得心得结构核功能, 有利于生物的进化。

### 13, 核酶具有哪些结构特点? 其生物学意义是什么?

答: 核酶的结构特点: 核酶的锤头结构特点是: 三个茎区形成局部的双链结构; 其中含 13 个保守的核苷酸, N 代表任何核苷酸; 生物学意义: 1, 核酶是继反转录现象之后对中心法则的有一个重要的修正, 说明 RNA 既是遗传物质又是酶; 2, 核酶的发现为生命起源的研究提供了新思路——也许曾经存在以 RNA 为基础的原始生命。

## 第四章 生物信息的传递(下) ----从 mRNA 到蛋白质

### 1, 遗传密码有哪些特征?

答: 1, 密码的连续性, 密码之间无间断也没有重叠; 2, 密码的简并性, 许多氨基酸都有多个密码子; 3, 密码的通用性和特殊性, 遗传密码无论在体内还是在体外, 无论是对病毒、细菌、动物还是植物而言都是通用的, 但是也有少数例外; 4, 密码子和反密码子的相互作用。

### 2, 有几种终止密码子? 它们的序列和别名分别是什么?

答: 3 种, UAA、UAG 和 UGA, 别名是无意义密码。

### 3, 简述摆动学说。

答: 1966 年, Crick 根据立体化学原理提出摆动学说, 解释了反密码子中某些稀有成分的配对。摆动学说认为, 在密码子与反密码子的配对中, 前两对严格遵守碱基配对原则, 第三对碱基有一定的自由度, 可以“摆动”, 因而使某些 tRNA 可以识别 1 个以上的密码子。认为除 A-U、G-C 配对外, 还有非标准配对, I-A、I-C、I-U, 并强调密码子的 5' 端第 1、2 个碱基严格遵循标准配对, 而第 3 个碱基可以非标准配对, 具有一定程度的摆动灵活性。

### 4, tRNA 在组成和结构上有哪些特点?

答: 1. tRNA 中含有稀有碱基, 除 ACGU 外还含有双氢尿嘧啶、假尿嘧啶等; 2. tRNA 分子形成茎环结构; 3. tRNA 分子末端有氨基酸接纳茎; 4. tRNA 分子序列中很有反密码子。

### 6, 什么是 SD 序列? 其功能是什么?

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。

### 9. 链霉素为什么能够抑制蛋白质的合成？

答：链霉素是一种氨基葡萄糖型抗生素，分子式  $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$ ，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，通常为一段短的氨基酸序列，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。

### 14. 什么是核信号序列，其序列组成有哪些特点？主要功能是什么？

存在于核蛋白中，引导核蛋白出核的序列，称为出核信号序列(NES)。

经典的 NES 序列是由疏水性氨基酸尤其是亮氨酸和异亮氨酸富集的区域构成。

功能：经典的 NES 大多为 CRM1 依赖性。它能够被出核因子识别并结合，从而携带该蛋白出核。

### 16. 增强子具有哪些特点？

答：(1) 增强相邻启动子的转录；(2) 两个方向都能起作用；(3) 位于相邻启动子的上游或下游都能起作用；(4) 在远距离外也能起作用；(5) 具有细胞类型的特异性。

### 1. 说出分子克隆的主要改进过程

#### 试述基因克隆载体进化过程。

①pSC101 质粒载体，第一个基因克隆载体

②ColE1 质粒载体，松弛型复制控制的多拷贝质粒

- ③pBR322 质粒载体，具有较小的分子量（4363 bp）。能携带 6-8 kb 的外源 DNA 片段，操作较为便利
- ④pUC 质粒载体，具有更小的分子量和更高的拷贝数
- ⑤pGEM-3Z 质粒，编码有一个氨苄青霉素抗性基因和一个 lacZ'基因
- ⑥穿梭质粒载体，由人工构建的具有原核和真核两种不同复制起点和选择标记，可在不同的寄主细胞内存活和复制的质粒载体
- ⑦pBluescript 噬菌粒载体，一类从 pUC 载体派生而来的噬菌粒载体

## 2. 试述 PCR 扩增的原理和步骤。

**原理：**首先将双链 DNA 分子在临近沸点的温度下加热分离成两条单链 DNA 分子，DNA 聚合酶以单链 DNA 为模板并利用反应混合物中的四种脱氧核苷三磷酸、合适的  $Mg^{2+}$  浓度和实验中提供的引物序列合成新生的 DNA 分子。

**步骤：**①将含有待扩增 DNA 样品的反应混合物放置在高温（ $>94^{\circ}C$ ）环境下加热 1 分钟，使双链 DNA 变性，形成单链模板 DNA

②降低反应温度（退火，约  $50^{\circ}C$ ），约 1 分钟，使寡核苷酸引物与两条单链模板 DNA 结合在靶 DNA 区段两端的互补序列位置上

③将反应混合物的温度上升到  $72^{\circ}C$  左右保温 1-数分钟，在 DNA 聚合酶的作用下，从引物的 3'-端加入脱氧核苷三磷酸，并沿着模板分子按  $5' \rightarrow 3'$  方向延伸，合成新生 DNA 互补链

## 3. 筛选基因文库主要有哪些方法

- ①□ 核酸杂交法：其以广泛的适用性和快速性成为基因文库筛选中最常用方法之一。
- ②□ PCR 筛选法：有很强的通用性，操作简单，但前提是已知足够的序列信息并获得基因特异性引物。
- ③□ 免疫筛选法：免疫筛选法：基于抗体特异性结合原理，即使实验中靶基因的序列完全未知，只要有针对该基因产物的抗体，也能筛选。

## 4. 基因定点突变的原理

答：定点突变是重组 DNA 进化的基础，该方法通过改变基因特定位点核苷酸序列来改变所编码的氨基酸序列，常用于研究某个氨基酸残基对蛋白质的结构、催化活性以及结合配体能力的影响。

### 1. 基因敲除

**原理：**又称基因打靶，通过外源 DNA 与染色体 DNA 之间的同源重组，进行精确的定点修饰和基因改造，具有专一性强、染色体 DNA 可与目的片段共同稳定遗传等特点

**方法：**高等动物基因敲除技术，植物基因敲除技术

### 2. 什么是完全基因敲除和条件基因敲除。

- ① 完全基因敲除：是指通过同源重组法完全消除细胞或者动物个体中的靶基因活性；
- ② 条件基因敲除：是指通过定位重组系统实现特定时间和空间的基因敲除。

### 4. 免疫共沉淀 CoIP 的原理和过程。

该技术的核心是通过抗体来特异性识别候选蛋白。首先将靶蛋白的抗体通过亲和反应连接到固体基质上，再将可能与靶蛋白发生相互作用的待筛选蛋白加入反应体系中，用低离心力沉淀或微膜过滤法在固体基质和抗体的共同作用下将蛋白质复合物沉淀到试管的底部或微膜上。如果靶蛋白质与待筛选蛋白质发生了相互作用，那么这个待筛选蛋白质就通过靶蛋白与抗体和固体基质相互作用而被分离出来。

## 酵母菌单双杂交系统的基本原理和作用。

**酵母菌单杂交系统基本原理：**首先将已知的特定顺式作用元件构建到最基本启动子的上游，把报告基因连接到 Pmin 下游。然后将编码待测转录因子 cDNA 与已知酵母转录激活结构域融合表达载体导入酵母细胞，该基因产物如果能够与顺式作用元件相结合，就能激发 Pmin 启动子，是报告基因得到表达。

**作用：**酵母单杂交系统主要被用于确定某 DNA 分子与某个蛋白质之间是否存在相互作用，用于分离编码结合于特定顺式调控元件或其他 DNA 位点的功能蛋白编码基因，验证反式转录调控因子的 DNA 结合结构域，准确定位参与特定蛋白质结合的核苷酸序列。

酵母双杂交系统巧妙的利用真核生物转录调控因子的组件式结构特征，因为这些蛋白往往由两个或两个以上相互独

立的结构域构成。其中 DNA 结合结构域（BD）和转录激活结构域（AD）是转录激活因子发挥功能所必需的。单独的 BD 能与特定基因的启动区结合，但不能激活基因的转录，而由不同转录调控因子的 BD 和 AD 所形成的杂合蛋白却能行使激活转录的功能。

1. 说出经典遗传学 and 现代遗传学的异同。

经典遗传学认为基因是一个最小的单位，不能分割，既是结构单位又是功能单位。

现代基因概念：基因是 DNA 分子上带有遗传信息的特定核苷酸序列区段；基因由重组子、突变子序列构成，重组子是 DNA 重组的最小交换单位，突变子是基因突变的最小单位，重组子和突变子都是一个核苷酸对碱基对；基因决定某一性状表现，可以包含多个功能单位（顺反子）。

真核原核的比较

5, 比较原核与真核的核糖体组成。

答：1，真核细胞中的核糖体数量多于原核；2，真核细胞中核糖体 RNA 占细胞中总 RNA 的量少于原核；3，原核生物的核糖体通过与 mRNA 的相互作用，被固定在核基因组上，真核生物的核糖体则直接或间接的与细胞骨架有关联或者与内质网膜结构相连；4，原核生物核糖体由约 RNA 占 2/3 及 1/3 的蛋白组成，真核生物核糖体中 RNA 占 3/5，蛋白质占 2/5。

1. 比较真核生物与原核生物转录起始的第一步有什么不同。

答：原核生物中，具有特异识别能力的  $\sigma$  亚基识别转录起始点上游的启动字同源序列，这样可以使全酶与启动子序列结合力增加，形成闭合的二元起始复合物。关键的作用时 RNA 聚合酶与 DNA 的相互作用。真核生物中，当含 TBP 的转录因子与 DNA 相互作用时，其它转录因子也结合上来，形成起始复合体，这一复合物在于 RNA 聚合酶结合，因此主要是 RNA 与蛋白质之间的作用。

5.原核生物 DNA 具有哪些不同于真核生物 DNA 的特征？

- ① 结构简练 原核 DNA 分子的绝大部分是用来编码蛋白质，只有非常小的一部分不转录，这与真核 DNA 的冗余现象不同。
- ② 存在转录单元 原核生物 DNA 序列中功能相关的 RNA 和蛋白质基因，往往丛集在基因组的一个或几个特定部位，形成功能单元或转录单元，它们可被一起转录为含多个 mRNA 的分子，称为多顺反子 mRNA。
- ③ 有重叠基因 重叠基因，即同一段 DNA 能携带两种不同蛋白质信息。主要有以下几种情况① 一个基因完全在另一个基因里面 ② 部分重叠 ③ 两个基因只有一个碱基对是重叠的

15. 列举原核生物同真核生物转录的差异

原核生物	真核生物
1、一种 RNA 聚合酶	1、三种 RNA 聚合酶
2、不同启动子具相当大的同源性	2、不同启动子的差异大
3、聚合酶直接与启动子结合	3、聚合酶通过转录因子相互作用进行结合
4、没有增强子	4、有增强子
5、转录作用的终止由在几个多聚	5、转录的终止是靠转录过程特殊的核

U 前面形成茎环	酸内切酶切割的序列介导
6、聚合酶 III 的启动子位于被转录的序列之中	6、启动子通常位于基因的上游
7、转录单位只含一基因	7、转录单位常常含有多基因

## 期中考过的

### 2. . 解释在 DNA 复制过程中，后随链是怎样合成的。

答：DNA 聚合酶只能朝 5' → 3' 方向合成 DNA，后随链不能像前导链一样一直进行合成。后随链是以大量独立片段（冈崎片段）合成的，每个片段都以 5' → 3' 方向合成，这些片段最后由连接酶连接在一起。每个片段独立引发、聚合、连接。

### 8, 简述原核生物和真核生物 mRNA 的区别。

答：1，原核生物 mRNA 常以多顺反子的形式存在。真核生物 mRNA 一般以单顺反子的形式存在；2，原核生物 mRNA 的转录与翻译一般是偶联的，真核生物转录的 mRNA 前体则需经转录后加工，加工为成熟的 mRNA 与蛋白质结合生成信息体后才开始工作；3，原核生物 mRNA 半寿期很短，一般为几分钟，最长只有数小时。真核生物 mRNA 的半寿期较长，如胚胎中的 mRNA 可达数日；4，原核与真核生物 mRNA 的结构特点也不同，原核生物的 mRNA 的 5' 端无帽子结构，3' 端没有或只有较短的 poly A 结构。

### 11, 简述 I、II 类内含子的剪接特点。

答：I 类内含子的剪接主要是转酯反应，即剪接反应实际上是发生了两次磷酸二酯键的转移。在 I 类内含子的切除体系中，第一个转酯反应由一个游离的鸟苷或者鸟苷酸介导，鸟苷或鸟苷酸的 3' —OH 作为亲核基团攻击内含子 5' 端的磷酸二酯键，从上游切开 RNA 链。在第二个转酯反应中，上游外显子的自由 3' —OH 作为亲核基团攻击内含子 3' 位核苷酸上的磷酸二酯键，使内含子被完全切开，上下游两个外显子通过新的磷酸二酯键相连。

II 类内含子主要存在于真核生物的线粒体和叶绿体 *rRNA* 基因中，在 II 类内含子切除体系中，转酯反应无需游离鸟苷或鸟苷酸，而是由内含子本身的靠近 3' 端的腺苷酸 2' —OH 作为亲核基团攻击内含子 5' 端的磷酸二酯键，从上游切开 RNA 链后形成套索结构。再由上游外显子的自由 3' —OH 作为亲核基团攻击内含子 3' 位核苷酸上的磷酸二酯键，使得内含子被完全切开，上下游两个内含子通过新的磷酸二酯键相连。

### 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-tRNA<sup>Met</sup>。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-tRNA<sup>Met</sup> 相结合，再与模版 mRNA 结合，最后与 60S 大亚基结合生成 80S. mRNA. Met-tRNA<sup>Met</sup> 起始复合物。

### ◆ 简述代谢物对基因表达调控的两种方式。

◆ 原核生物代谢物对基因表达调控的方式有两种：可诱导调节和可阻遏调节。**可诱导调节**：是指一些基因在特殊的代谢物或化合物的作用下，由原来关闭的状态转变为工作状态，即在某些物质的诱导下使基因活化；**可阻遏调节**：这类基因平时都是开启的，处在产生蛋白质或酶的工作过程中，由于一些特殊代谢物或化合物的积累而将其关闭，阻遏了基因的表达。

◆ 什么是操纵子学说？

◆ 操作子学说是关于原核生物基因结构及基因表达调控的学说，由雅各布(F. Jacob)和莫诺(J. Monod)于 1961 年提出，并在 10 年内经许多科学家的补充和修正得以完成。

◆ 简述乳糖操纵子的调控模型。

◆ 乳糖操纵子包括调节基因、启动基因、操纵基因和结构基因。大肠杆菌的 lac 操纵子受到**两方面的调控**：一是对 RNA 聚合酶结合到启动子上去的调控（阳性）；二是对操纵基因的调控（阴性）。在含葡萄糖的培养基中大肠杆菌不能利用乳糖，只有改用乳糖时才能利用乳糖。

◆ DNA 甲基化对基因表达的调控机制。

◆ 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。

◆ 简述增强子的作用机理。

◆ 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 种作用机制：**(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”。

## 第一章

### 1 简述孟德尔、摩尔根和沃森等人对分子生物学发展的主要贡献

答：孟德尔的对分子生物学的发展的主要贡献在于他通过豌豆实验，发现了遗传规律、分离规律及自由组合规律；摩尔根的主要贡献在于发现染色体的遗传机制，创立染色体遗传理论，成为现代实验生物学奠基人；沃森和克里克在 1953 年提出 DNA 反向双平行双螺旋模型。

### 2 写出 DNARNA 的英文全称

答：脱氧核糖核酸（DNA, Deoxyribonucleic acid），核糖核酸（RNA, Ribonucleic acid）

### 3 试述“有其父必有其子”的生物学本质

答：其生物学本质是基因遗传。子代的性质由遗传所得的基因决定，而基因由于遗传的作用，其基因的一半来自于父方，一般来自于母方。

### 4 早期主要有哪些实验证实 DNA 是遗传物质？写出这些实验的主要步骤

答：一，肺炎双球菌感染实验，1，R 型菌落粗糙，菌体无多糖荚膜，无毒，注入小鼠体内后，小鼠不死亡。2，S 型菌落光滑，菌体有多糖荚膜，有毒，注入到小鼠体内可以使小鼠患病死亡。3，用加热的方法杀死 S 型细菌后注入到小鼠体内，小鼠不死亡；二，噬菌体侵染细菌的实验：1，噬菌体侵染细菌的实验过程：吸附→侵入→复制→组装→释放。2，DNA 中 P 的含量多，蛋白质中 P 的含量少；蛋白质中有 S 而 DNA 中没有 S，所以用放射性同位素 <sup>35</sup>S 标记一部分噬菌体的蛋白质，用放射性同位素 <sup>32</sup>P 标记另一部分噬菌体的 DNA。用 <sup>35</sup>S 标记蛋白质的噬菌体侵染后，细菌体内无放射性，即表明噬菌体的蛋白质没有进入细菌内部；而用 <sup>32</sup>P 标记 DNA 的噬菌体侵染细菌后，细菌体内有放射性，即表明噬菌体的 DNA 进入了细菌体内。三，烟草 TMV 的重建实验：1957 年，Fraenkel-Conrat 等人，将两个不同的 TMV 株系（S 株系和 HR 株系）的蛋白质和 RNA 分别提取出来，然后相互对换，将 S 株系的蛋