

华中农业大学研究生课程考试试卷（II）

考试科目名称：分子生物学

考试时间：2007. 1. 26

姓名：_____ 学号：_____ 班级：_____

备注：所有答案均要写在答题纸上，否则，一律无效。

一、解释名词（30 分）

1. **Z-DNA**：Wang 和 Rich 等人在研究人工合成的 CGCGCG 单晶的 X-射线衍射图谱时分别发现这种六聚体的构象是左手双螺旋，在主链中各个磷酸根呈锯齿状排列，有如“之”字形一样，因此叫它 Z 构象。
2. **拓扑异构酶（Topoisomerase）**：拓扑异构酶 I：它的作用是暂时切断一条 DNA 链，形成酶-DNA 共价中间物而使超螺旋 DNA 松弛化，然后再将切断的单链 DNA 连接起来，而不需要任何辅助因子。
拓扑异构酶 II：能将负超螺旋引入 DNA 分子，该酶能暂时性地切断和重新连接双链 DNA，同时需要 ATP 水解为 ADP 以供能。
3. **端粒（Telomere）**：是真核生物染色体的天然末端，是细胞必需的遗传组分，因为它能够补偿染色体末端遗传信息的丢失。控制着细胞的分裂次数，端粒随着细胞分裂每次变短，短到某个程度，细胞将不再分裂。
4. **酵母人工染色体（YAC）**：将四膜虫的端粒与酵母的部分染色体（CEN 着丝点，ARS 复制原点）拼接起来再导入酵母细胞，成为酵母人工染色体。
5. **SD 序列（Shine-Dalgarno sequence）**：原核生物 mRNA 上起始密码子 AUG 上游方向 4~13 个核苷酸之前有一段富含嘌呤的序列，其一致序列为 5' -AGGAGGU-3'，称为 SD 序列。
6. **信号肽（Signal peptide）**：位于新合成肽链的 N 端，一般 16~30 个氨基酸残基，含有 6-15 个连续排列的带正电荷的非极性氨基酸，由于信号肽又是引导肽链进入内质网腔的一段序列，又称开始转移序列（start transfer sequence）。
7. **SNP**：指在单个核苷酸上的突变所引起的多态，多是双等位基因，且某一等位基因的频率不低于 1%。
8. **空转反应（Idling reaction）**：严谨反应的触发器是位于核糖体 A 位的无负载的 tRNA，当这种无负载的 tRNA 进入 A 位后，无法形成新的肽键，而 GTP 却在不断消耗---空转反应（Idling reaction）。
9. **复制型转座（Replicative transposon）**在复制性转座中，所移动和转位的是原转座子的拷贝。
10. **RNA 干涉（RNA interference）**：在实验室中是一种强大的实验工具，利用具有同源性的双链 RNA（dsRNA）诱导序列特异的目标基因的沉寂，迅速阻断基因活性。SiRNA 在 RNA 沉寂通道中起中心作用，是对特定信使 RNA（mRNA）进行降解的指导要素。

二、简答题（40 分）

1. 什么是 DNA 甲基化？简要说明 DNA 甲基化的生物学意义。

胞嘧啶与甲基在甲基化酶的作用下形成 5'-甲基胞嘧啶的过程称 DNA 的甲基化。

DNA 甲基化抑制或降低转录水平, 在基因转录起始点附近有高度密集的 CpG 重复序列, 被称为 CpG 岛, 推测该序列与基因转录活性有关。

2. 简述真核生物 mRNA、tRNA 和 rRNA 前体转录后加工的区别。

mRNA: 5' 加帽→3' 端切断并加上 polyA→剪接除去内含子对应的序列→甲基化。

tRNA: 碱基修饰→3' 端加 CCA-OH→RNA 酶切除 5' 端多余核苷酸→切除内含子。

rRNA: 一系列特定的剪切使不同的间隔区域从一长链前 RNA 分子上分离出来, 47s→45s→41s→30s, 20s→5.8s, 18s, 28s, 把存在 DNA 分子上的一些与基因转录有关的*****

3. 何为顺式作用元件？请举出三种真核生物基因的顺式作用元件。

影响自身基因表达活性的非编码 DNA 序列, 组成基因转录的调控区。

例: 启动子: 转录调节蛋白和 RNA 聚合酶的结合位点;

增强子: 是一个有增强转录的顺式作用元件, 能够提高一些真核生物启动子的效率, 并能能在启动子的任何方向和任何位置(上游或下游)作用。

沉默子: 负性调节元件, 当其结合特意蛋白因子时, 对基因转录起阻遏作用。

4. 以 trp 操纵元为例简述衰减子的调控机制。

当细胞中有色氨酸存在时, 核糖体能够顺利翻译出整个前导肽而在终止密码子处停下来。这时, 核糖体占据了序列 1 和部分序列 2, 使序列 2 和序列 3 不能产生有效的配对, 因而序列 3 和序列 4 配对产生终止子的发夹结构, 于是实现转录的终止。

当出现 Trp 饥饿时, 核糖体停顿在两个 Trp 密码子上, 这时, 核糖体占据了序列 1 而留下完整的序列 2 以便与转录出的或即将转录出的序列 3 形成二级结构。这样, 当序列 4 转录出来后仍然是单链状态, 即终止子不能形成, 于是转录继续进行下去。

5. 简要说明你对“系统生物学(Systematic Biology)”内涵的理解？

系统生物学是在细胞、组织、器官和生物体整体水平研究结构和功能各异的各种分子间及相互作用, 并通过计算生物学来定量描述和预测生物功能的表形和行为。它将在基因组序列的基础上完成由生命密码到生命过程的研究, 这是逐步整合的过程, 由生物体内各种分子的鉴别及其相互作用的研究途径, 网络, 模块, 最终完成整个生命活动的路线图。

6. 什么是分子杂交？请举一例说明其用途。

是用一个 DNA 单链或 RNA 单链与另一被测 DNA 单链形成双链, 以测定某特异序列是否存在。

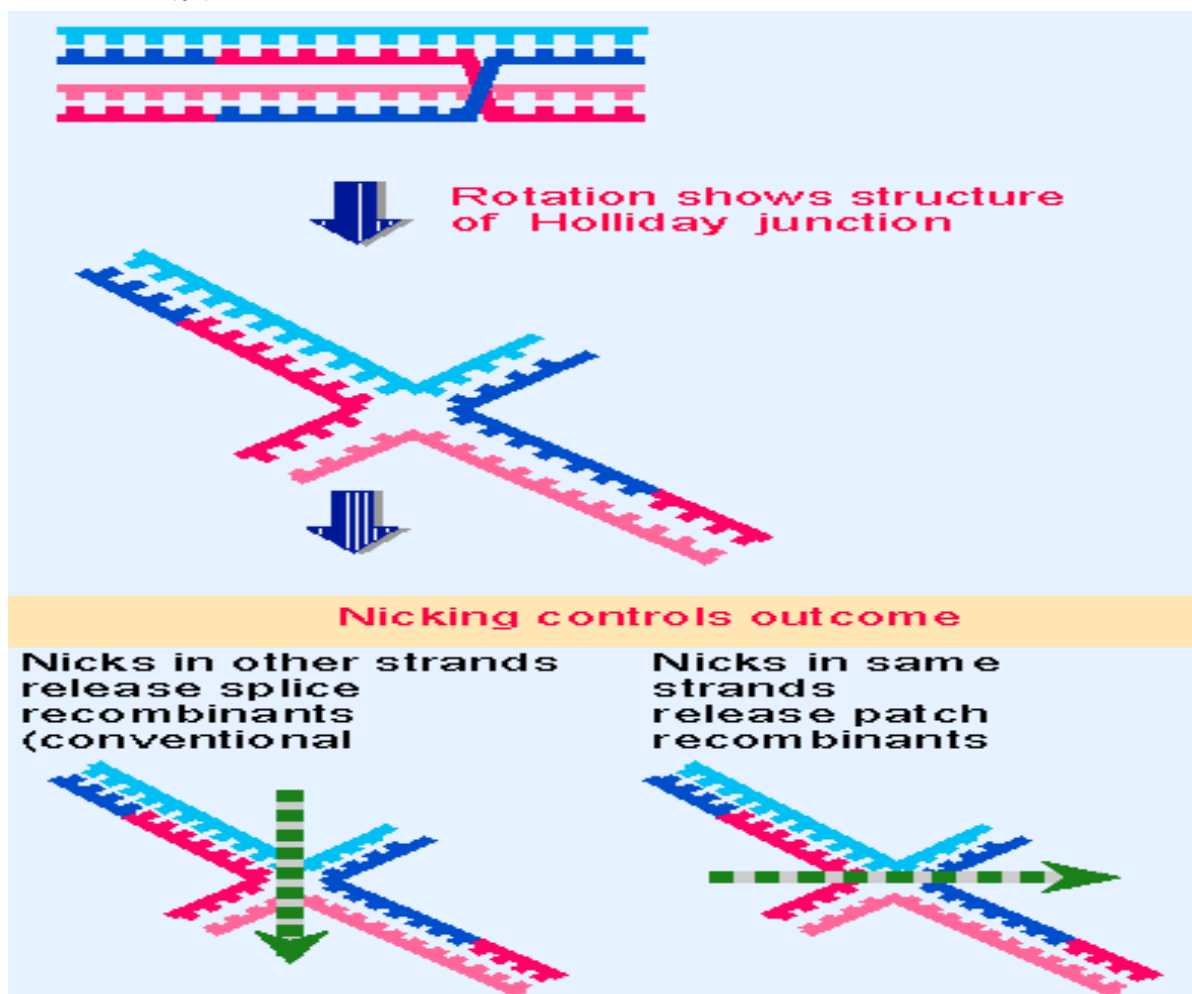
Eg. Northern 杂交---检验 RNA, 提取某种生物或组织的总 RNA 或 mRNA, 用含有变性剂的琼脂糖凝胶电泳分离 RNA, 分离后再将凝胶上的 RNA 带吸印到尼龙膜上, 在液相中和标记的核酸探针进行杂交, 用此方法可以测定某基因表达的时空特异性。

7. 什么是同源重组？请图示 Holliday 结构拆分的两种方式及其结果。

同源重组 (Homologous Recombination) 是指发生在姐妹染色单体 (sister chromatin) 之间或同一染色体上含有同源序列的 DNA 分子之间或分子之内的重新组合。

涉及到大片段同源 DNA 序列之间的交换。在真核生物减数分裂过程中发生的这种重组是一种交

互重组的类型



Holliday 结构

同源重组中连接两个 DNA 双链的交换中间物含有 4 股 DNA 链,在连接处为了转换配对所形成交叉链的连接点为 Holliday 结构。

8. 请根据你的见解给基因下一个定义,并列举至少 3 种不同类型的基因。

基因是 DNA 分子上的一个区段(具有编码序列),一个 DNA 分子可以包含几个乃至几千个基因,基因不是最小的遗传单位,而是可再分的,基因是最小的功能单位。例如:重叠基因、断裂基因、重复基因、假基因、跳跃基因。

三、应用题(30 分,7 题中任选 3 题)

1. 给你一管核酸,你可用什么方法区别它是 DNA 或 RNA?

①溶解性:都溶于水而不溶于乙醇,因此,常用乙醇来沉淀溶液中的 DNA 和 RNA。DNA 溶于苯酚而 RNA 不溶,故可用苯酚来沉淀 RNA。

②利用 Southern blotting 及 Northern blotting 杂交法区分 DNA 和 RNA。DNA 分子可以与硝酸纤维素滤膜结合,通过特异性探针检测 DNA 片段的存在。而 RNA 分子不能与硝酸纤维素滤膜结合,而是将 RNA 转移到叠氮化的或其他化学修饰的活性滤纸上,通过共价交联作用而使他们结合在一起。所以通过不同的杂交方法可以鉴别 DNA 和 RNA。

③沉降速度:对于拓扑异构体(核苷酸数目相同的核酸),其沉降速度从大到小依次为:RNA;超螺旋 DNA > 解链环状 DNA;松弛环状 DNA;线形 DNA 也就是在离心管中最上层是线形 DNA,最下

面是 RNA。

④利用 RNase 与 DNase 水解鉴定 DNA 和 RNA。RNase 能水解 RNA 片段,而不水解 DNA 片段;而 DNase 只能水解 DNA 而不能水解 RNA, 这样通过水解的程度与与与可鉴别 DNA 和 RNA。

⑤显色反应:

鉴别 DNA 和 RNA, 加入浓盐酸,

RNA→绿色化合物, DNA →蓝紫色化合物苔黑酚

2. 假设你从细菌 B(非大肠杆菌)中分离到一个质粒, 命名为 pBX, 大小约 8kb, DNA 序列未知。请你设计实验, 克隆和鉴定该质粒的复制原点(replication origin, ori)。

用相同的限制性内切酶分别酶切质粒 DNA 和具有抗生素抗性基因的质粒 DNA,选择 DNA 片段与质粒 DNA 连接后, 转换缺乏 Amp 抗性基因的受体菌, 接种于含有 Amp 的培养基中, 选择能正常生长的菌落, 即可克隆到该质粒的复制起点的 DNA 片段。因为只有同时具有 ori 和 Amp 抗性重组 DNA 的菌落才能在含有氨苄青霉素的培养基中正常繁殖。

3. 请设计实验证明某基因存在内含子。

内含子的鉴定是通过所谓的“berk-sharp”制图法又称 S1 核酸制图法来实现的, 其原理是: 利用 S1 核酸酶的单链特异性, 核酸酶 VII 的单链外切特异性, 以及稀碱溶液能分解 RNA 的特性, 来对杂交分子做不同的处理以得到外显子的长度。内含子的长度以及基因的总长度。

具体操作: 首先将 DNA 进行转录, 制备 mRNA, 然后将 DNA 与 mRNA 分子进行杂交, 对杂交分子做不同的处理。一份杂交分子用 S1 酶处理, 核酶能降解所有的单链区, 留下一个有缺口的 DNA 与 mRNA 杂交双链分子, 如果直接走电泳, 可以得到一个带, 相当于外显子连接起来的长度;如果经碱溶液处理在走电泳, 则得到多条带, 为外显子带。另外一份杂交分子用外切核酸酶 VII 处理, 去除两端没杂交的 DNA, 在用碱溶液处理, 去除 RNA, 走电泳得到一条带为外显子及其之间的内含子的总长度。从而鉴定内含子。

4. 已知蛋白质 P (由基因 p 编码, 序列已知) 可以在某动物传代细胞 C (该细胞可在体外培养和传代) 中激活基因 g (序列已知) 的转录, 即 P 是基因 g 的一个转录因子, 请你设计实验, 确定基因 g 上游的转录因子 P 的调控区, 并进行验证。

转录因子与特异的调控序列相结合有利于转录的起始, 凝胶阻滞技术可以显示出标记核酸结合 pro 的阻滞效果, 并可被用来检测与调控序列相结合的转录因子, 将一段短的标记核酸 (转录起始点上游区域) 与蛋白质 P 混合后, 并与对照样品一起进行电泳分析, 标记分子与蛋白因子特异结合产生 DNA 蛋白质复合物, 经放射性自显影在凝胶上做迁移带。DNase I 足迹法: 用末端标记的 DNA 片段与蛋白质样品相混合, 待相互结合后, 用 DNase I 对复合物进行温和酶解, 将酶解的 DNA 进行 PAGE 电泳分析, 与蛋白质结合的 DNA 被酶切割, 泳道中出现某些带的空缺。

5. 如何用分子生物学技术区分“同卵双胞胎”与“来自同一供体的克隆动物”?

用来鉴定个体与其家族的亲缘关系的 DNA 指纹技术的基础就是小卫星 DNA 的重复序列在某些卫星 DNA 序列的排列中拷贝数高度可变的, 这在不同个体中的变异极大, 这种多变异体现了基因的多态性, 通过限制性内切酶, Southern 印迹和杂交, 可以确定基因组中几个不同卫星 DNA 排列组中的 DNA 的精确长度, 进而可以鉴别一个特定个体, 也就是说另一个个体 (除了双胞胎或同一克隆)

具有同样一套同样的排列长度的概率是极其微小的，而双胞胎或同一克隆具有同样一套排列长度，这种排列是从双亲那里各得一半，亲缘关系可以通过比较不同个体间的长度来确定。

6. 你用什么方法可以证明某基因与野生型基因相比存在缺失突变？

可以用 RFLP 分析法：即限制性内切片段长度的多态性。限制性内切酶可以识别基因组内某些特定的 DNA 序列，并在此处催化裂解，产生一系列大小不等的 DNA 片段，经琼脂糖凝胶电泳后转移到硝酸纤维素膜上，用标记过的特异性探针进行杂交，通过放射自显影检测特定的 DNA 片段之间的差异性。特定识别序列碱基的改变而造成的酶切位点的改变，从而检测到是否有缺失突变。

7. 什么是蛋白质组学？简述二维电泳 (2-DE) 和质谱 (MS) 技术在蛋白质组学研究中的应用。

蛋白质组学：指研究蛋白质组的技术及这些研究得到的结果，蛋白质组学的研究试图比较细胞在不同生理或病理条件下蛋白质表达的异同，对相关蛋白质进行分类和鉴定。

二维电泳：主要用于蛋白质的分离。

质谱：

(1) 蛋白质或多肽分子量测定。

(2) 蛋白质或多肽的鉴定：多肽序列的测定，肽质量指纹图谱法，一级质谱结合串联质谱法。

Designed By Lorjean