10 DNA复制

1.DNA的什么结构特征保证了DNA是以半保留方式进行复制的？

答：DNA是由两条螺旋盘绕的多核苷酸链所组成，两条链通过碱基对之间的氢键链接在一起，所以这两条链是互补的。一条链上的核苷酸排列顺序决定了另一条链上的核苷酸排列顺序。

2.冈崎片段是如何产生的？它们最终为何又能首尾相连接？

答：冈崎片段之所以存在，是因为DNA聚合酶无法在样板DNA的 5'往3'的方向上合成DNA，因此只能反向合成 在样本DNA上产生了许多以5'到3'方向合成的冈崎片段(建立的片段与样本DNA方向相反 故依旧是5'往3')，再由DNA黏合酶将其黏合，所以首尾相连。

3.真核生物复制起点有何基本特征？有何最新研究进展？

答：[真核生物](https://www.baidu.com/s?wd=%E7%9C%9F%E6%A0%B8%E7%94%9F%E7%89%A9&tn=44039180_cpr&fenlei=mv6quAkxTZn0IZRqIHckPjm4nH00T1YvrHDzPWu-n1R3mHf3Pjbv0ZwV5Hcvrjm3rH6sPfKWUMw85HfYnjn4nH6sgvPsT6KdThsqpZwYTjCEQLGCpyw9Uz4Bmy-bIi4WUvYETgN-TLwGUv3En1TsPjcvP1mYrjnLnWR4rHcY)为线性DNA,具有多个复制起始位点,形成多个复制叉,[DNA聚合酶](https://www.baidu.com/s?wd=DNA%E8%81%9A%E5%90%88%E9%85%B6&tn=44039180_cpr&fenlei=mv6quAkxTZn0IZRqIHckPjm4nH00T1YvrHDzPWu-n1R3mHf3Pjbv0ZwV5Hcvrjm3rH6sPfKWUMw85HfYnjn4nH6sgvPsT6KdThsqpZwYTjCEQLGCpyw9Uz4Bmy-bIi4WUvYETgN-TLwGUv3En1TsPjcvP1mYrjnLnWR4rHcY)的移动速度较[原核生物](https://www.baidu.com/s?wd=%E5%8E%9F%E6%A0%B8%E7%94%9F%E7%89%A9&tn=44039180_cpr&fenlei=mv6quAkxTZn0IZRqIHckPjm4nH00T1YvrHDzPWu-n1R3mHf3Pjbv0ZwV5Hcvrjm3rH6sPfKWUMw85HfYnjn4nH6sgvPsT6KdThsqpZwYTjCEQLGCpyw9Uz4Bmy-bIi4WUvYETgN-TLwGUv3En1TsPjcvP1mYrjnLnWR4rHcY)慢.原核生物为一般为环形DNA,具有单一复制起始位点.

4.为何说*E. Coli*的DNA 聚合酶I是一个多功能酶？

答：因为E.coli的DNA pol Ⅰ涉及DNA损伤修复，在半保留复制中起辅助的作用。

5. 端粒酶的组成与端粒DNA的复制有什么关系？

答：端粒酶可将端粒DNA加至真核细胞染色体末端.端粒在不同物种细胞中对于保持染色体稳定性和细胞活性有重要作用,端粒酶能延长缩短的端粒（缩短的端粒其细胞复制能力受限）,从而增强体外细胞的增殖能力.

6.什么是DNA聚合酶的校正功能？

答：DNA聚合酶的校正功能是指它具有3‘→5‘外切酶活性。

7. 错配修复和切除修复有什么差别？

答：错配修复可校正DNA复制和重组过程中非同源染色体偶尔出现的DNA碱基错配，错配的碱基可被错配修复酶识别后进行修复。而切除修复是指细胞内有多种特异的[核酸内切酶](https://baike.baidu.com/item/%E6%A0%B8%E9%85%B8%E5%86%85%E5%88%87%E9%85%B6)，可识别DNA的损伤部位，在其附近将DNA单链切开，再由[外切酶](https://baike.baidu.com/item/%E5%A4%96%E5%88%87%E9%85%B6)将损伤链切除，由[聚合酶](https://baike.baidu.com/item/%E8%81%9A%E5%90%88%E9%85%B6)以完整链为模板进行修复合成，最后有连接酶封口。

8. 重组质粒DNA分子的什么特征对于其在宿主细胞里繁殖是必不可少的？

答：1. 环状DNA分子能够自我复制,或整合到染色体上,随染色体复制。2. 有多个限制酶切点(便于切割)。3. 有复制起点，重组后可以复制让外源基因能复制。

9.活体内的DNA复制比体外DNA合成的保真度要高好几个数量级的原因是什么？这对我们体外不同目的基因操作有何启发？

10.查一查目前市面上哪些药物是通过抑制细菌或病毒DNA复制的？

答：拉米夫定、齐多夫定、恩曲他滨、替诺福韦、阿德福韦酯

11 转录

1.基因组里某个基因转录的模板链能否在特定情况下转变为非模板链的角色？为什么？

答：不能。因为非模板链中的T在mRNA链中全部置换成了U。

2. 转录是是按碱基配对合成新生的RNA，转录的RNA序列的保真度是如何实现的？和DNA复制相比保真度有无差别？

3. 转录起始地具体位置由什么决定？转录的效率又由什么决定？

答：决定转录起始位置的是基本启动子，决定转录效率的是转录辅因子和中介复合物。

4. 据研究， RNA转录刚开始时合成2-3个核苷酸长度的寡核苷酸可能由于结合不牢而掉下来，转录得重新起始。试解释或假设这种情况下是如何重新起始转录的？

5. 原核生物和真核生物DNA转录（基因表达）有哪些主要差别？

答：1.原核基因的表达调控主要包括转录和翻译水平真核基因的表达调控主要包括染色质活化、转录、转录后加工、翻译、翻译后加工多个层次。2.原核基因表达调控主要为负调控,真核主要为正调控。3. 原核转录不需要转录因子

,RNA聚合酶直接结合启动子,由sita因子决定基因表的的特异性真核基因转录起始需要基础特异两类转录因子依赖DNA-蛋白质、蛋白质-蛋白质相互作用调控转录激活。

6. 真核生物基因多含有内含子，在进化上有什么意义？

答：内含子在转录后的加工中,从最初的转录产物除去的内部的核苷酸序列.术语内含子也指编码相应RNA内含子的DNA中的区域.内含子可能含有“旧码”,就是在进化过程中丧失功能的基因部分.正因为内含子对翻译产物的结构无意义,它比外显子累积有更多的突变.

7. RNA的修饰有哪些类型？（注意修饰和加工的区别）

答：

8. （特定组织中某个基因或所有基因的mRNA含量）的技术有哪些？简述它们的原理。

答：荧光定量PCR技术是通过荧光染料或荧光标记的特异性探针，对PCR产物进行标记跟踪，实时监控反应过程。随着PCR 反应的进行，反应产物不断累积，荧光信号强度也等比例增加。每经过一个循环，收集一次荧光强度信号，这样就可以通过荧光强度变化监测产物量的变化，结合相应的软件对产物进行分析，可以得到荧光扩增曲线，计算待测样品初始模版的量。

[逆转录PCR](https://www.baidu.com/s?wd=%E9%80%86%E8%BD%AC%E5%BD%95PCR&tn=44039180_cpr&fenlei=mv6quAkxTZn0IZRqIHckPjm4nH00T1Y4PyR3uHIBPjbknvcvrHPh0ZwV5Hcvrjm3rH6sPfKWUMw85HfYnjn4nH6sgvPsT6KdThsqpZwYTjCEQLGCpyw9Uz4Bmy-bIi4WUvYETgN-TLwGUv3EnHR1rj0dnWfk)就是扩增目的RNA的意思。就是使少量的目的RNA扩增成大量的DNA。如果能扩增成功，则说明样品中含有目的RNA。这一步只能说明[目的基因](https://www.baidu.com/s?wd=%E7%9B%AE%E7%9A%84%E5%9F%BA%E5%9B%A0&tn=44039180_cpr&fenlei=mv6quAkxTZn0IZRqIHckPjm4nH00T1Y4PyR3uHIBPjbknvcvrHPh0ZwV5Hcvrjm3rH6sPfKWUMw85HfYnjn4nH6sgvPsT6KdThsqpZwYTjCEQLGCpyw9Uz4Bmy-bIi4WUvYETgN-TLwGUv3EnHR1rj0dnWfk)被转录了。

western blot是用来检测蛋白质的。先制作针对目的蛋白质的抗体，然后用这个抗体检测目的蛋白质。如果样品含有目的蛋白，那么抗体会和这个蛋白结合，并能相对容易地被检测出来。

所谓直接检测，是指如果那个基因能产生一些很明显的东西那么就根据这些来直接检测那个基因有无表达。

9. 假定你从某个真核生物组织的总mRNA分子中鉴定获得你感兴趣的一个mRNA对应的 cDNA序列，如何分离获得该基因的完整的DNA序列（假定该真核生物的基因组尚未被测序）？

10. 抑制原核生物RNA合成的常见药物有哪些？（注意区分抗细菌和抗病毒的药物）

答；万古霉素

12 翻译

1.为何氨酰tRNA合成酶被称为“第二遗传密码”？？

答：第一遗传密码就是经转录后生成的mRNA上的三联体密码,可以编码氨基酸,氨酰tRNA合成酶可以利用氨酰tRNA末端的反密码子识别相应氨基酸,在蛋白质合成过程中是十分重要的,所以把氨酰tRNA末端的反密码子叫做“第二遗传密码”

2. 如何证明多肽链合成是从N端向C端进行的？

答：血红蛋白中含有较多亮氨酸。其氨基酸序列为已知。合成反应在较低温度（15度）中进行，以降低合成速度。在反应开始后的4-60分钟内，每隔一定时间取样分析。将带有标记的蛋白质分离出来，用胰蛋白酶水解肽链，用纸层析法分离水解碎片并测定所含放射性强度。从实验结果中发现，反应4分钟后，只有竣基端含有3H-亮氨酸。随着反应时间的延长，带有标记的肽段自羧基向N端延伸，到60min时，几乎整个肽断都布满了标记物。这个实验说明多肽链的合成是从N端向C端进行的

3. 原核生物多肽链的合成是如何起始的？

答：1.核蛋白体大小亚基分离2.mRNA在小亚基定位结合3.起始氨基酰-tRNA的结合4.核蛋白大亚基结合

4. 一个真核基因可能表达出多个蛋白质，可能有哪些原因

答：1基因编码产生的前体RNA经过不同剪切产生了不同的mRNA，mRNA编码产生了不同的蛋白质。2同一个基因上有不同的读码框，这种见于[原核生物](https://www.baidu.com/s?wd=%E5%8E%9F%E6%A0%B8%E7%94%9F%E7%89%A9&tn=44039180_cpr&fenlei=mv6quAkxTZn0IZRqIHckPjm4nH00T1YLujRvnj6Yn1TvuhDsPA790ZwV5Hcvrjm3rH6sPfKWUMw85HfYnjn4nH6sgvPsT6KdThsqpZwYTjCEQLGCpyw9Uz4Bmy-bIi4WUvYETgN-TLwGUv3EnWRLPWm1PHf4)和病毒中3同一段基因上有不同的启动子，比如果蝇的SXL基因在早期和晚期的表达。

5.真核生物是如何识别体内不正常折叠蛋白或“老化”蛋白？对它们是如何进行“清理”的？

答：内质网相关的蛋白质降解(ERAD)是蛋白质质量控制的核心环节，在UPR上调生存基因，降低总转录和翻译的同时，ERAD选择性水解未折叠和错误折叠蛋白显然是一种降低内质网应激的直接手段。这种水解机制被称为泛素一蛋白酶体信号通路(UPP)，顾名思义，UPP要有两个核心部分：泛素(Ub)系统和蛋白酶体，它们分工非常明确，Ub负责标记未折叠蛋白，蛋白酶体负责特异性水解这些标记蛋白。Ub和蛋白酶体也被称为泛素蛋白酶系统(UPS)。

6. 抑制原核生物蛋白质合成的常见药物有哪些？

答：有链霉素、新霉素、卡那霉素等

7.一个新发现的蛋白序列里预测有核定位信号，如何用实验证实这个蛋白定位在细胞核？（至少要用两种方法）

8. 举例说明糖基化对蛋白在细胞内正确的定位的重要性。

答：许多糖蛋白同时具有N-连接的糖链和O-连接的糖链。O-连接的糖基化在高尔基体中进行，通常第一个连接上去的糖单元是N-乙酰半乳糖，连接的部位为Ser、Thr和Hyp的羟基，然后逐次将糖基转移到上去形成寡糖链，糖的供体同样为核苷糖，如UDP-半乳糖。糖基化的结果使不同的蛋白质打上不同的标记，改变多肽的构象和增加蛋白质的稳定性。

9. “蛋白质合成是细胞代谢的中心”这一观点是否正确？为什么？

答：正确。因为蛋白质是生命活动的主要承担者。