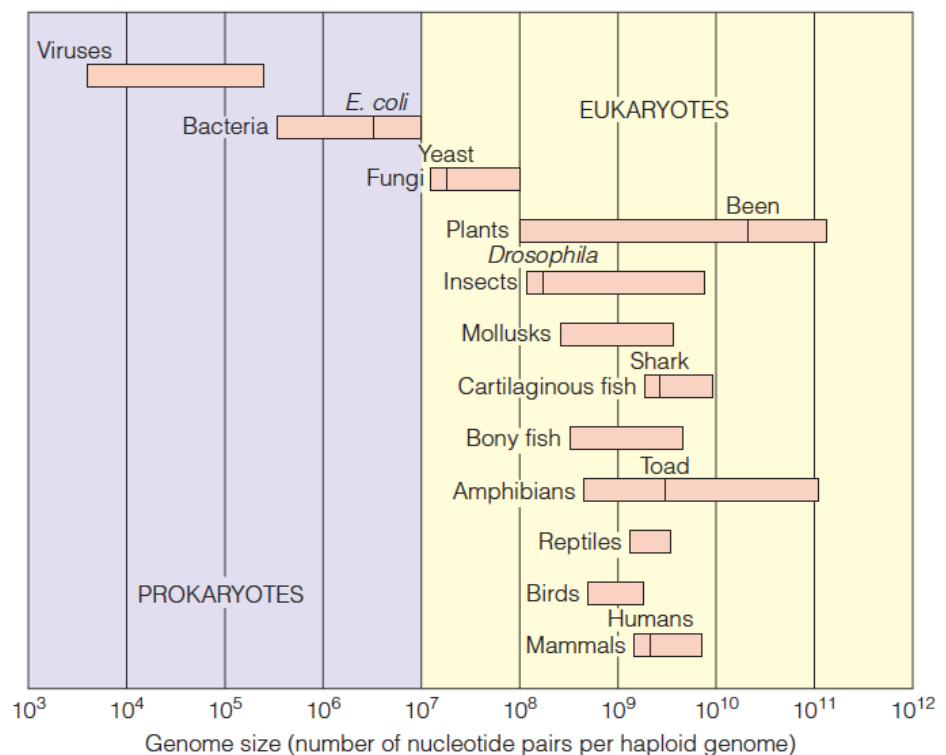


主題：CH24 Genes, Genomes, and Chromosomes	
教師：王子堅	日期：2014/5/29
撰稿組：孟軒 煜傑 恩慈 宗倫	審稿組：瑜烈 益廷 佑林 弘軒

一、Genome size：

1. 指一個基因組(Genome)中所含有的 DNA 的量，通常計算的量可用重量、鹼基數(Mbp)去計算。
2. 下圖的橫條狀圖，代表著每一種不同的種族族群中所含有的 Genome sizes。每一種族群中用一條垂直線標出來的是那個族群中特殊的物種(ex. E. coli, Yeast, Humans...)
3. 值得注意的是，並非生物複雜度越複雜的物種所擁有的 Genome size 就越大，像是哺乳類的 Genome size 在下圖看起來算是小的，兩棲類明顯大許多。



二、如何測定 Genome size

1. 通常以加熱的方法，先使原本的雙股 DNA denature 後變成單股的 DNA，再從單股 DNA 還原為雙股 DNA 的速率來測定複雜性。可想而知，較複雜 DNA 序列重組的速率會比較慢，因為較難尋找到特定的另一股。詳細的計算過程如下：

Rate of reaction
<p>The reaction follows the second order equation</p> $\frac{dC}{dt} = -kC^2$ <p>C is the concentration of DNA that is single-stranded at time t k is a reassociation rate constant.</p>
Progress of reaction
<p>Integrate the rate equation between the limits: initial concentration of DNA = C_0 at time $t = 0$; concentration remaining single stranded = C after time t</p> $\frac{C}{C_0} = \frac{1}{1 + k.C_0t}$

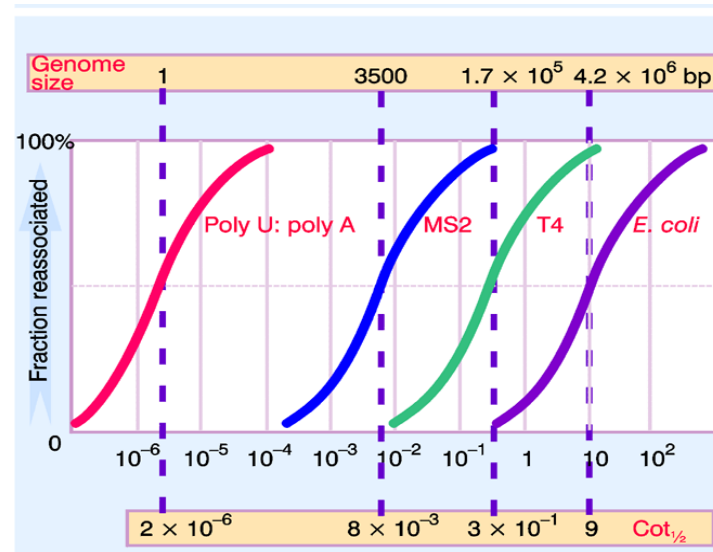
Critical parameter is $C_0 t_{1/2}$

When the reaction is half complete at time $t = t_{1/2}$

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{2} = \frac{1}{1 + k \cdot C_0 t_{1/2}}$$
 Therefore $C_0 t_{1/2} = \frac{1}{k}$

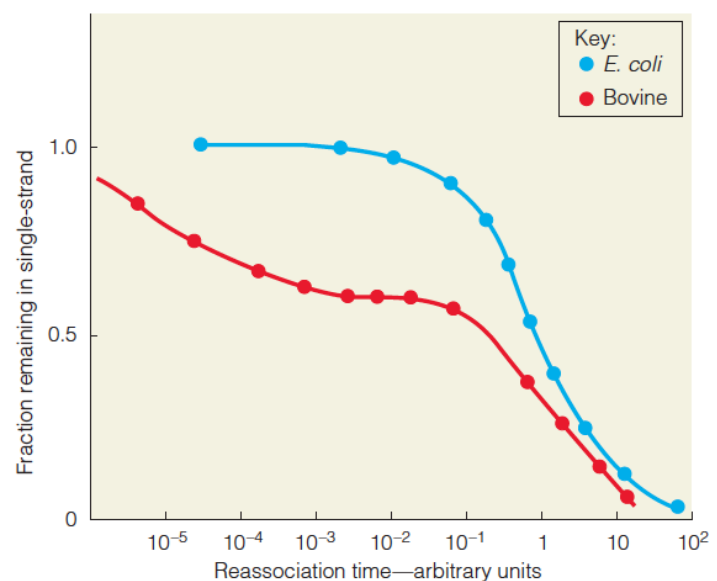
2. 由算式可以知道，當 $C_0 t_{1/2}$ 越大時，代表反應速率常數 K 值越小， K 值小即表示反應進行比較慢，可推得 Genome size(或是說 Genome complexity) 越大。由此可知， $C_0 t_{1/2}$ 和 DNA 的複雜性有正相關。

3. 右圖的縱座標表示 DNA reassociated 的比例，橫坐標表 $C_0 t_{1/2}$ 的數值。將每次不同物種測出來的曲線取中間值(50%)，可代表那一物種的 $C_0 t_{1/2}$ 。從右圖可看出， $C_0 t_{1/2}$ 越大則 Genome size 也越大。



三、比較 Prokaryotic and Eukaryotic 的 Genome

- 右圖中的兩條曲線，一條是 E. coli，另一條為牛的。
- 可以看出牛的曲線和 E. coli 的曲線相當不同，是因為牛的 DNA reassociate 分為兩步驟。主要是因 DNA 有兩種片段，一種是沒有重複的序列(nonrepeated sequences)，另一種是重複序列(repeated sequences)。
- 一開始，nonrepeated sequences 先 reassociate，因此速度較慢，到了接近 50%時，換成第二個階段：repeated sequences reassociate，因此才會呈現右圖的狀況。許多有重複 DNA 序列的生物，通常都是以右圖牛的曲線呈現。



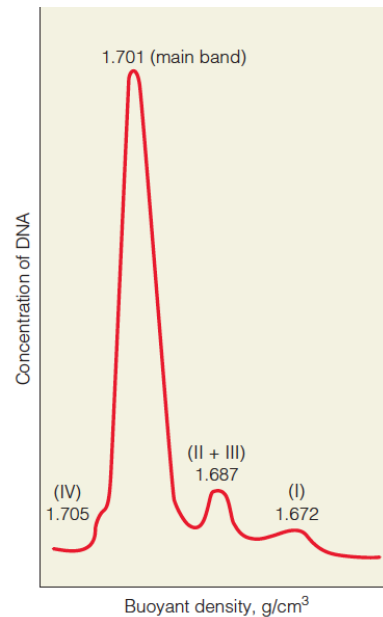
4. 老師有特別提到此圖有錯誤的地方，紅色 Bovine 的曲線應該要往右移。

四、Eukaryotic 基因組的特徵：

通常 Eukaryotic 基因組都含有許多重複的序列，例如 satellite DNAs 和 scattered duplicate sequences (LINES, SINES)。

1. Satellite DNAs

Satellite DNAs 是許多重複的 DNA 序列，通常是在著絲點附近。其中有一段序列的量是最多的，稱為 main band，在 main band 周圍還有許多不同的序列，這些 DNA 序列片段就稱為 satellite DNAs。如右圖

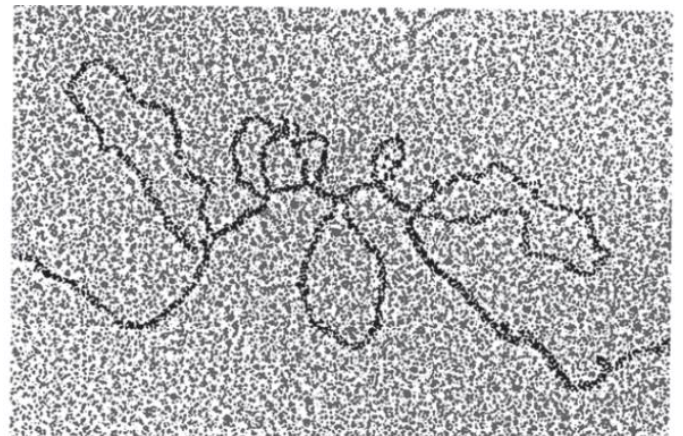


2. Exon-intron

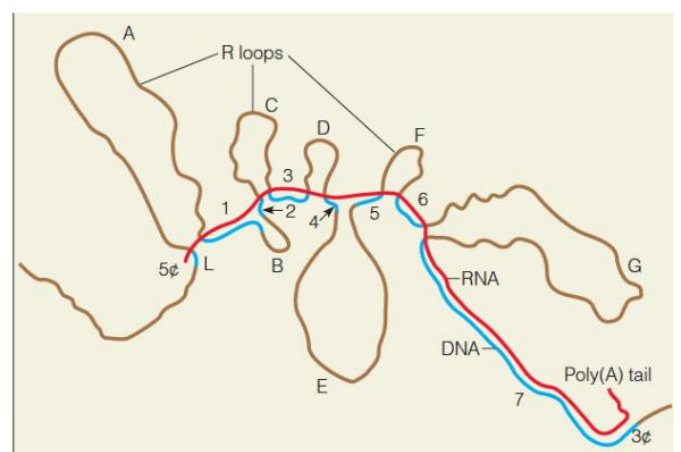
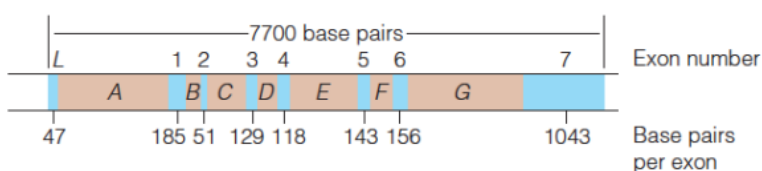
還有另一種特色是 Eukaryotic genome 含有外顯子(exon)和內含子(intron)，exon 是可以被轉錄轉譯出來的，相反的 intron 則無法。

右圖是雞的卵清蛋白(ovalbumin)基因在電子顯微鏡下的圖片，此片段正在做轉錄。

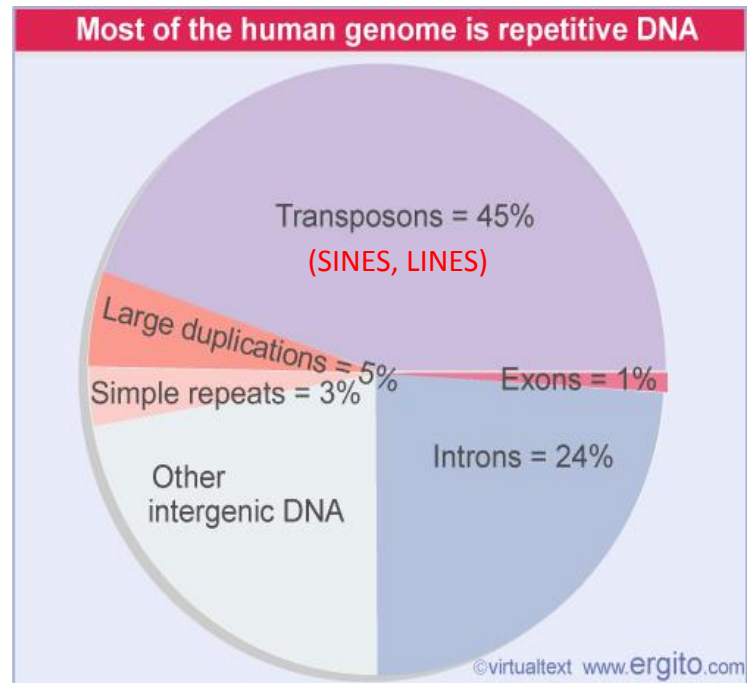
右下圖則是右圖的示意圖，可以看到藍色片段即是 exon，可以轉錄出完整的 mRNA(紅色)，然而棕色的部分即是 intron，因為在轉錄時不需要利用到，而形成了一圈一圈的 R loops 在 mRNA 周圍。



下圖為此片段 DNA 示意圖



右圖為人類 Genome 組成示意圖可以發覺其實 exon 的含量少之又少，大不分還是以重複的 DNA 片段為主。



老師上課時有特別說到，一段 Gene 約有 1000 個 bps，因此從下表格可以看出來 Gene 和 Genome size 的關係，大約就差了 1000 倍。

Organism or Virus	Genome Size, bp	Number of Genes	Physical Nature of the Genome
<i>Escherichia coli</i>	4,639,221	~4400	Circular duplex
Bacteriophage T4	168,889	~175	Linear duplex, circularly permuted*
Bacteriophage T7	39,936	~35	Linear duplex, small repetition each end
Bacteriophage λ	48,502	~50	Linear duplex, single-stranded ends
Influenza virus	~13,500	12	Single-stranded RNA
HIV	9,749	23	Single-stranded RNA
Bacteriophage φX174	5,387	11	Circular single-stranded DNA
Bacteriophage M13	6,407	11	Circular single-stranded DNA
Simian virus 40	5,226	6	Circular duplex DNA
Tobacco mosaic virus	~6,400	4	Single-stranded RNA
Bacteriophage MS2	3,689	4	Single-stranded RNA

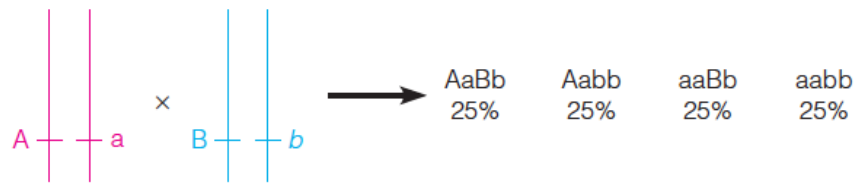
五、DNA 定序(Determining Genome Nucleotide Sequences)

分為兩種一種是 genetic map，另一種則是 physical map，Genetic map 是利用基因的重組率來做分析，單位是 centimorgan。這種圖譜表現出來的是基因或特定 DNA 片段之間的相對位置，而不是它們各自的絕對位置，這種方法比較舊現在少用。Physical map 則是 DNA 兩點的實際距離，是實際將 DNA 片段排序而得，單位是鹼基的數目 (Kb)。

1.genetic recombination

此方法即是以基因重組去計算 DNA 上的基因片段位置來定序。

如下圖，如果兩個基因 A 和 B 是在不同對的染色體上，從 genetic recombination 的結果來看就無法得知此兩基因的關聯性。



但如果換成下面這張圖，同一對 DNA 上有 A 與 B 兩種不同基因，會因為在減數分裂時有互換的情形發生，形成基因序列的 recombination，會造成子代的基因組合不一樣。



藉由基因互換的結果，可以推出這對染色體的互換率(recombination frequency)，有了互換率就能定出這兩基因在這對染色體上的相對位置進而了解基因的位置關係。

2.Physical map

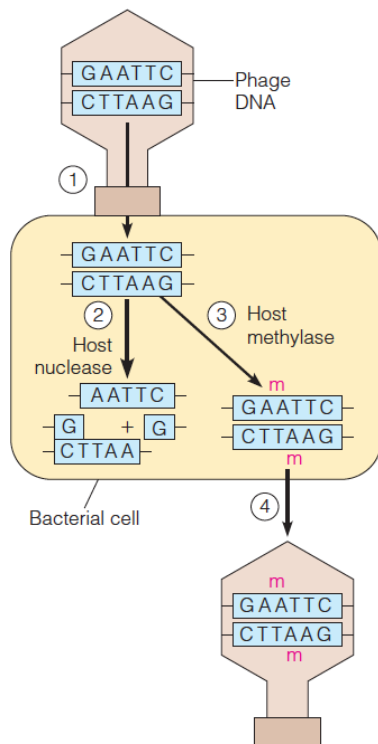
我們常用的 Physical Mapping 的方法有

- FISH (fluorescent in situ hybridization)
- Restriction maps
- Southern blotting
- REFP (restriction fragment length polymorphism) in DNA fingerprinting and locating genes
- Cloning and DNA sequencing

FISH 是利用某段特殊序列和分裂中期(metaphase)的 DNA 做雜交(hybridization)，再利用抗體螢光呈色，使得我們可以知道這段特殊序列是在哪個染色體上的或在細胞空間中的哪個位置。我們也可以利用 FISH 螢光標定的特性知道 mRNA 或 plasmid 在細胞中或組織中的那些位置。

我們要定序的方法不可能把全部 DNA 或一整條染色體拿去做 Sequence(只能用在小段的 DNA 定序)，所以我們要定位出我們要定序的 DNA 片段是在哪一個染色體的哪個位置上，再把它拿去定序。

Restriction maps



細菌利用 site-specific DNA methylation(由 AdoMET 提供甲基) 去標誌自身的 DNA 免於被限制酶切割, 且利用限制酶去切外來的 DNA, 這個 restriction and modification 是細菌的免疫系統, 對抗病毒(ex.phage) 感染的方式。

圖.沒有被 modified 的 phage 感染了 bacteria, 大部分的 phage DNA 會被 endonuclease 所切割(第二步), 然而有時候 modification enzyme 會作用在 phage 的 DNA 上(0.01%)使的 phage 不會被切割而能順利的感染細菌。

註:

不同的 bacteria 有不同的限制酶, 因此不同細菌自身 modify 的位置也不同, 舉例來說:若是 Phage 受到 bacteria A 的 modified 後, 接者卻去感染 bacteria B 仍會被限制酶所切割。

Restriction and modification enzyme

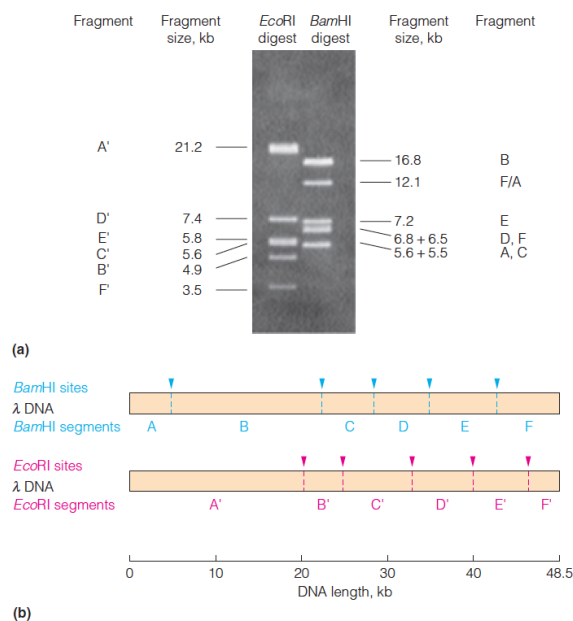
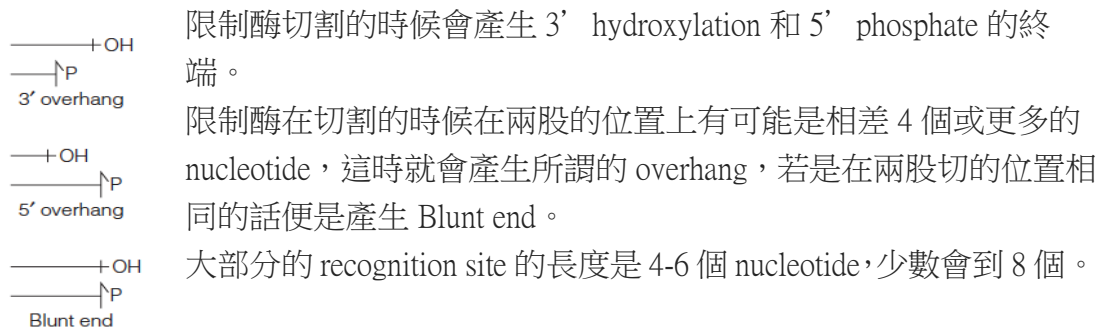
TABLE 24.2 Properties of restriction-modification systems

	Type I	Type II	Type III
Example	<i>EcoB</i>	<i>EcoRI</i>	<i>EcoPI</i>
Recognition site	TGAN ₈ TGCT	GAATTC	AGACC
Cleavage site	Up to 10 kbp away from recognition site	Between G and A (both strands)	24–26 base pairs 3' to recognition site
Methylation site	TGAN ₈ TGCT ACTN ₈ ACGA _m	GAATTC _m CTTAAG _m	AGACC _m (only one strand methylated)
Nuclease and methylase in one enzyme?	Yes	No	Yes
Requirements for cleavage	ATP, Mg ²⁺ , AdoMet	Mg ²⁺ or Mn ²⁺	Mg ²⁺ , AdoMet
Requirements for methylation	ATP, Mg ²⁺ , AdoMet	AdoMet	Mg ²⁺ , AdoMet

現今我們所知的有三個 Restriction and modification system。

1. Type1 和 Type3 的 nuclease 和 methylase 是在同一個酵素之上的, 而 Type2 則是在不同酵素之上(分子生物學最常使用)
2. Type1 切割的位置和辨認的位置差距可能很遠(大於 10kbp)可以大到 1000kbp 甚至是上萬, Type3 切割的位置則是在辨認的位置往 3' 方向 24 到 26 個 kbp 的位置做切割, 而 Type2 則是在辨認的位置做切割, 也因此他是實驗中最有用的(我們實驗所用的都是 Type2, 我們接者講的所有限制酶也是喔~)。
3. Type1 和 Type3 很相像, 最大差別是 Type1 需要 ATP。

Type2 限制酶切割

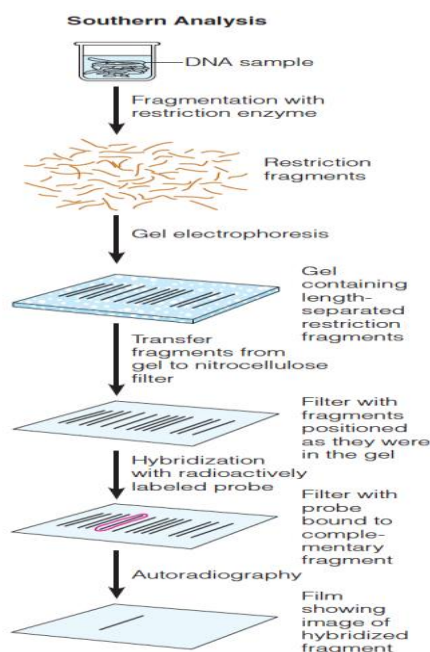


左圖是用兩種限制酶 EcoRI 和 BamHI 所切割的，再將切割的片段跑電泳而得到的結果。

有些片段因為距離過近，所以兩個片段只能看到一個 Band。

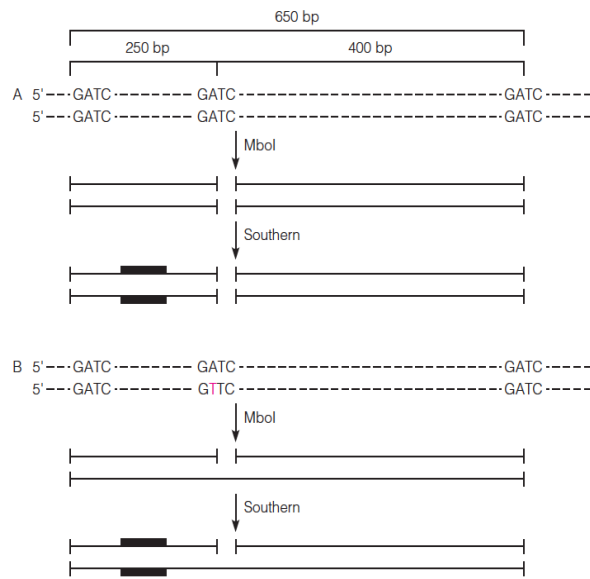
有些片段(A 和 F)會在他們的 cohesive ends 產生 base pairing 而連接一起。老師和課本只有講這樣，大家所要注意的重點是，我們利用限制酶建構出一個 restriction map 後，在靠 sequencing 便可以建構出一整個 DNA 的序列，或者已知 DNA 用限制酶切割後可以進行 DNA cloning 和 blotting

Southern blotting for detection of specific nucleotide sequences



Southern blotting 這方法讓我們可以從龐大的 DNA 序列中偵測我們所要的特定序列的 DNA。

Southern blotting 是先經由事先選定的特定限制酶切割出許多片段後，在使用電泳分離這些片段，接者把者些片段轉移到 membrane(nitrocellulose)上，然後將我們所要的特定序列的探針 hybridization 到 DNA 上，然後用螢光或者放射線標定，我們便能找到我們所要的特定序列 DNA。



RFLP

有些 DNA 的雙股在某些位置上序列是有點不一樣的，有可能是突變所造成(可能造成疾病)，產生 restriction fragment length polymorphism(RFLP) 現象，兩股相同的 DNA 卻切出不同的片段，左圖的 5' GATC 是限制酶的辨識位，而另一股卻是 5' GTTC，所以無法被切割。而我們從被限制酶所切的龐大數量的 DNA 片段中偵測出這兩個片段的方法便是利用 southern blotting。

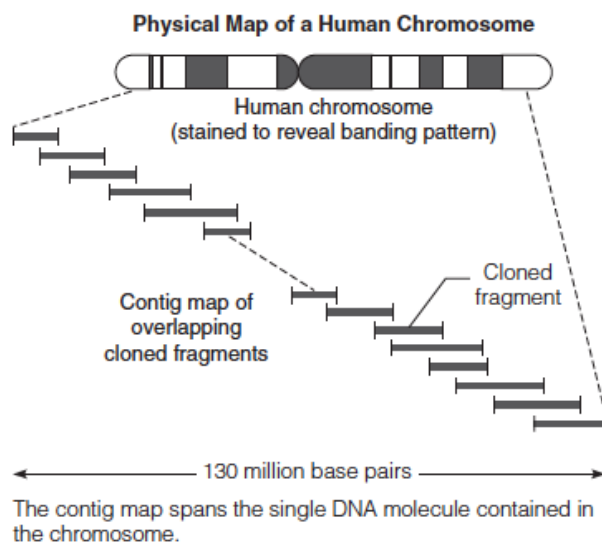
RFLP

在基因裡的 polymorphism 不單單只是因為一個單一的鹼基的改變，Insertion, deletion, and repetitions of short sequence 也會影響。

左圖是 10 個人(10 對基因，所以有 20 條不同的 DNA，一條父一條母)在某段基因區域的 variation。

老師有說此現象通常只發生在某些特定的位置。而我們可以用此特性辨識出每個人獨特的 DNA 序列，可以用來做 DNA Fingerprinting，以作為親子鑑定或者犯罪的鑑定。

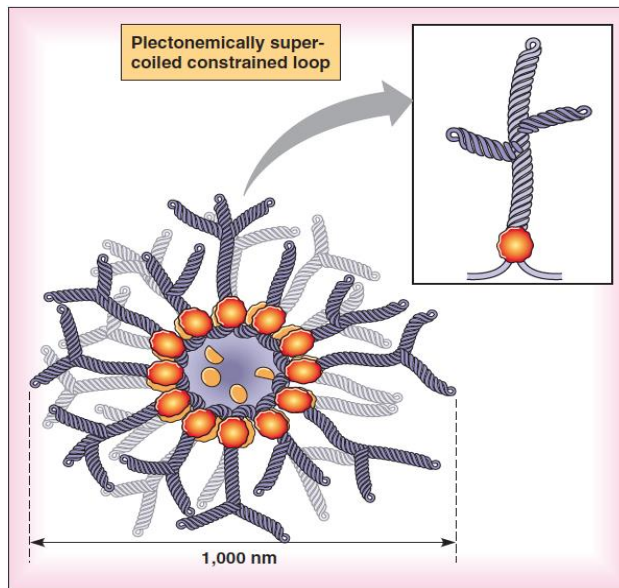
Low-frequency variant	Common SNP	Indel polymorphism	Recombination hotspot	Repeat polymorphism
G C	T	(G) C A	G A T C C	ATTCATTC
G C	T	(G) C A	G A T C C	ATTCATTC
G C	T A	(G) C T A	G A T C C	ATTCATTC
G C	T	(G) C A	G A T C C	ATTCATTC
G C	T	(G) C A	C C C T G	ATTC
G C	T	(G) C A	C C C T G	ATTC
G C	T	(G) C A	C C C T G	ATTC
G C	T	(G) C A	C C C T G	ATTC
A C	T	(G) A A	G A T C C	ATTCATTC
A C	T	(G) A A	G A T C C	ATTCATTC
A C	T	(G) A A	C C C T G	ATTC
A C	T	(G) A A	C C C T G	ATTC
A C	T	(G) A A	C C C T G	ATTC
A C	T	(G) A A	C C C T G	ATTC
G G	A	() C T	G A T C C	ATTCATTC
G G	A	() C T	G A T C C	ATTCATTC
G G	A	() C T	G A T C C	ATTCATTC
G G	A	() C T	G A T C C	ATTCATTC
G G	A	() C ()	C C C T G	ATTC
G G	A	() C T	C C C T G	ATTC



DNA 定序

定整條龐大染色體 DNA 序列的方法，一樣是用限制酶切成不同的片段，然後把它 cloned(大量選殖)到 vector 上，而每個 vector 可能攜帶不同片段的 DNA，我們藉由一段 cloned fragment 末段的序列，可以找到一段和它有部分重疊的 cloned fragment，然後再把 cloned fragment 拿去做定序，我們便可以建構出整個染色體的 DNA 序列。

- 細菌擬核（Nucleoid）的結構



左圖是細菌擬核的結構圖，從圖中可以看出每個獨立的 DNA domain 以超螺旋(supercoiled)的方式纏繞，並與蛋白質結合，形成一穩定之結構。

其中此種超螺旋的形式稱為 plectonemic，是在 DNA strand 中較常看到的形式。

另一種形式的超螺旋則稱作 solenoidal，之後會再詳細說明。

- 細胞核（nucleus）、染色體（chromosome）、染色質（chromatin）

比較重要的應該是 chromosome 和 chromatin 的差別（老師上課有提到）。

1. DNA 是 polynucleotide，在真核細胞中(DNA+蛋白質)就叫做 chromatin。簡單來說 **chromatin 就是一種 DNA-protein complex**
2. chromosome 則是有固定型態的，老師在上課中舉例人體有 22 對體染色體，但是不能說有 22 對染色質，因為 chromatin 是一種統稱，如上所述，是一種 DNA-protein 複合體。
3. chromosome 的組成中最重要的是 centromere（著絲點）和 telomere（端粒）。（以下節錄自去年共筆，相信大一生物好的同學一定記憶猶新 XD）

(1) Centromere：

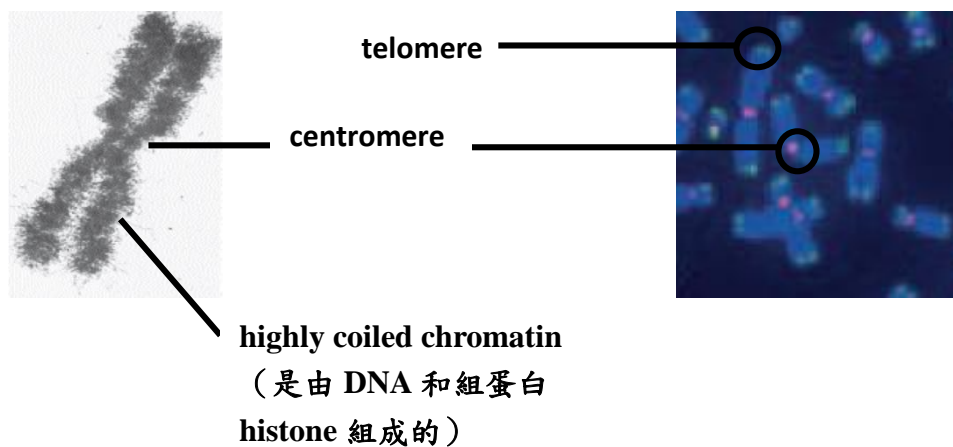
- a.在細胞分裂時，做為附著點的一段基因。
- b.可使蛋白附著，蛋白幫助姊妹染色體和紡錘絲連接。

(2)Telomere：

- a.位於染色體末端，協助穩定 DNA。
- b.人體中為 (TTAGGG)_n。
- c. telomere 和細胞老化有關：大部分的人類細胞分裂 52 次之後會失去細胞分裂的能力。

metaphase chromosome

metaphase chromosome stained by FISH



4. chromosome vs chromatin (出自去年共筆,老師上課沒提到,可做參考)

Chromosome (染色體)	Chromatin (染色質)
固定型態	無固定型態
描述病毒、細菌、真核生物的基因 訊息儲存型式	限真核生物 (今年老師上課有說)
一般(病毒、細菌)型態 在細胞分裂時出現(真核生物)	在 G0、G1、G2、S 時期： →無定形、隨機散布
差異點： 真核生物在非細胞分裂期的 DNA 型態會改變，而病毒、細菌始終如一	

● DNA packaging：重點在於 supercoiling！！

人類的 DNA 延展之後總長度約為 1.8mm，人的細胞核大小約是直徑 $6\mu\text{m}$ 。可以看出其 packing ratio 頗大，故需要以 DNA packaging 來使 DNA 塞進細胞核中。

其方法的大方向與上述 nucleoid 雷同，主要以 supercoiling 的方式來幫助這個過程。

當然，蛋白質的幫助也是需要的。

● 超螺旋 (Supercoil)

1. 為啥叫做超螺旋？

因為 DNA strand 原本就是雙股螺旋，現在讓它再螺旋一次，所以叫做超螺旋。

Relaxed DNA 結構張力固定，但當 DNA 兩股分開並順著股架為中心，多繞一圈或少繞一圈時，DNA 為了維持張力，會藉由形成 supercoil(8 字型)

的結構來維持。(Relaxed state：當 DNA 軸沒有 net binding 的狀態。)

2. 條件：要形成 supercoiled 型態的 DNA 必須是 **circular form** 或者是 **closed-end linear form**，總之，他的型態要是**封閉**的。想像一下，如果今天 DNA strand 是以 open-end linear form 的樣子呈現的話，不管怎麼旋轉它，都不可能使之成為超螺旋的形態。

3. Negative and positive supercoiling

Positive 和 negative 形成的 supercoil 方向相反。

當 DNA underwinding(少繞)時會形成 negative supercoil。

反之若是 overwinding(多繞)則會形成 positive supercoil。

4. Linking number (Lk)

$$\text{Linking number (Lk)} = \text{Twist (Tw)} + \text{Writhe (Wr)}$$

(1) Linking number：簡單來說就有點

像是總交叉個數。也就是兩股 DNA 相互交叉的數目；也可想成雙股 DNA 中的一股(環型)視為一平面，另一股所穿過此平面的次數。

(2) Twist：兩股 DNA 的交叉數。

(3) Writhe：就是因 supercoil 所產生的交叉數。

5. Topoisomerases 是調控 DNA underwinding 或 overwinding 的酵素。

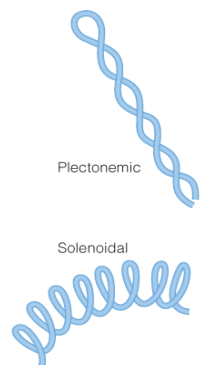
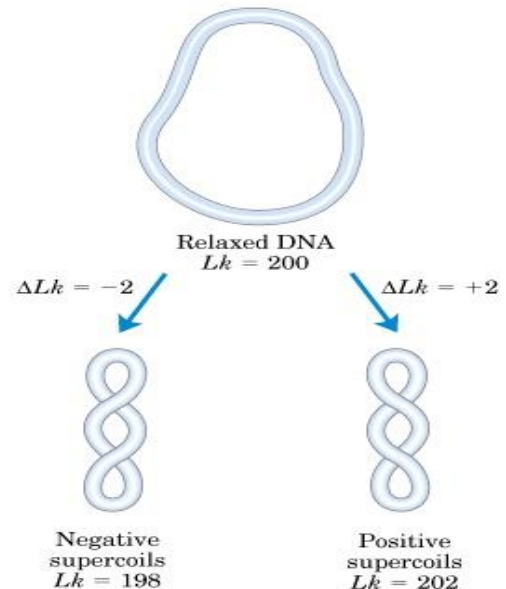
要使 linking number 改變就要讓 twist 或者是 writhe 改變。但是在正常情況下在 B-form 中 DNA 為 10.5bp/turn。所以在同一條 DNA 上其 twist 是不能改變的，故欲改變 linking number 只能從 writhe 下手。即是改變 supercoil 的部份。

老師在上課時只有提到 topoisomerase 可以使 writhe 改變而已，並沒有較詳細的說明。(在去年的共筆有 5/23 那份)

6. 超螺旋的形式：plectonemic and solenoidal supercoil

(1) Plectonemic supercoil：具有 extended right-handed turns，具有分支，為 DNA 在溶液中較穩定且常出現的結構。

(2) Solenoidal supercoil：具有 tight left-handed turns，藉由與 protein binding 可增加其穩定性，DNA 包裝程度更高，為 chromatin 存在的型式。

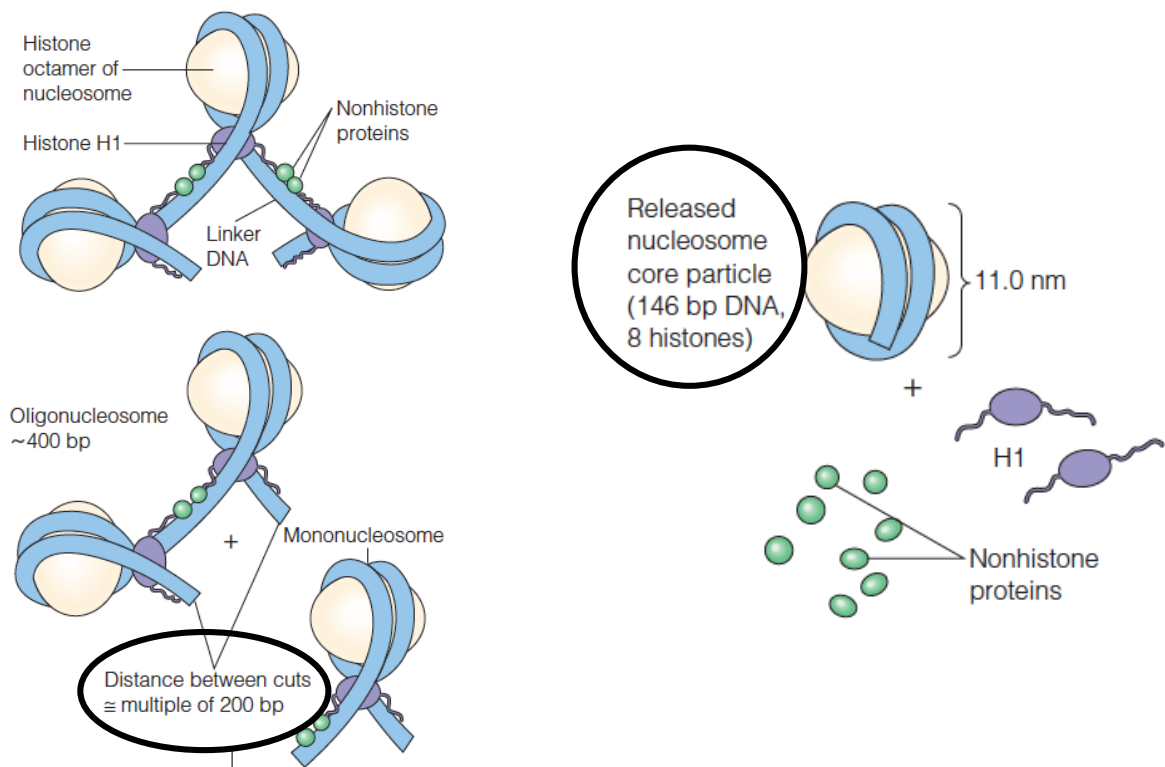


● Protein-assisted Packaging of DNA (組蛋白 histone)

TABLE 24.4 Properties of the major histone types

Histone Type	Molecular Weight	Number of Amino Acid Residues	mol %		Role
			Lys	Arg	
H1	22,500	244	29.5	1.3	Associated with linker DNA; helps form higher-order structure
H2A	13,960	129	10.9	9.3	Two of each go to form the histone octamer core of the nucleosome.
H2B	13,774	125	16.0	6.4	
H3	15,273	135	9.6	13.3	
H4	11,236	102	10.8	13.7	

- (1) 由上表可以看出組蛋白可分成 5 種 (H1,H2A,H2B,H3,H4) 其共同點是都含大量的 Lysine 和 Arginine，是鹼性的胺基酸。
- (2) **The basic repeating structure in chromatin is the nucleosome** (這句話考過所以打原文上來)。
- (3) Nucleosome 是由被 DNA 纏繞 2 次的一個 histone octamer(八個組蛋白組成的複合體)。
- (4) Chromatin 被分解到最後會形成 released nucleosome core particle, H1 histone, non histone protein。
- (5) released nucleosome core particle 包含了 146 對鹼基和 8 個組蛋白。
- (6) linker DNA 約為 54 對鹼基，所以一個 nucleosome core 加上一個 linker DNA (這叫做 mononucleosome) 共有約 200 對鹼基。(相信對有認真寫功課的同學一定不陌生 XD)



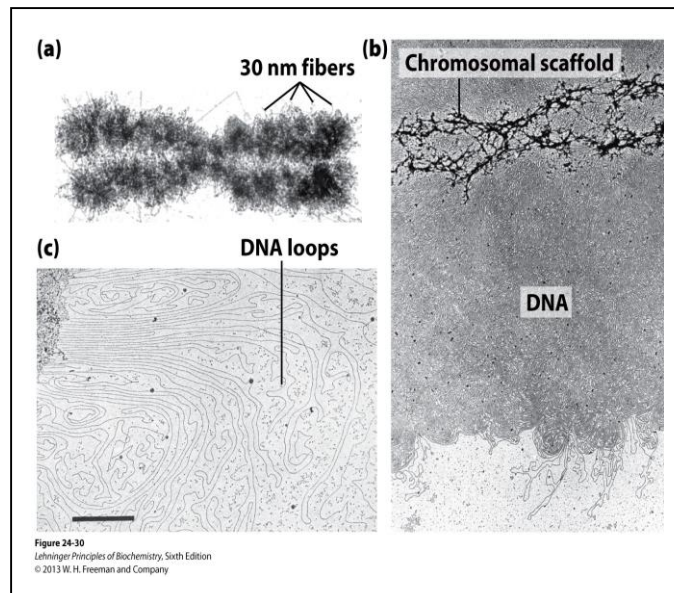
- Chromatin structure

(1) Structure

(a)為一 chromosome，注意其上的 30nm fibers

(b)可見到 DNA 圍繞在 Chromosomal Scaffold 周圍。

(c)可見 DNA 以 loops 的型式在細胞質中呈現，而左上角更可見 DNA loops 接在 scaffold 上。



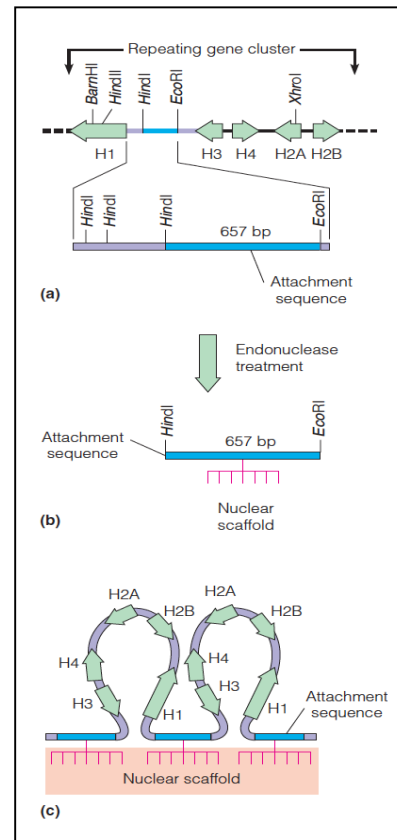
(2)nuclear matrix(或是 nuclear scaffold)

為真核細胞核內的網路結構，是指除核被膜、染色質、核纖層及核仁以外的核內網架體系。其主要功能為替 DNA 的複製及 RNA 的轉錄提供支架以供其進行反應。

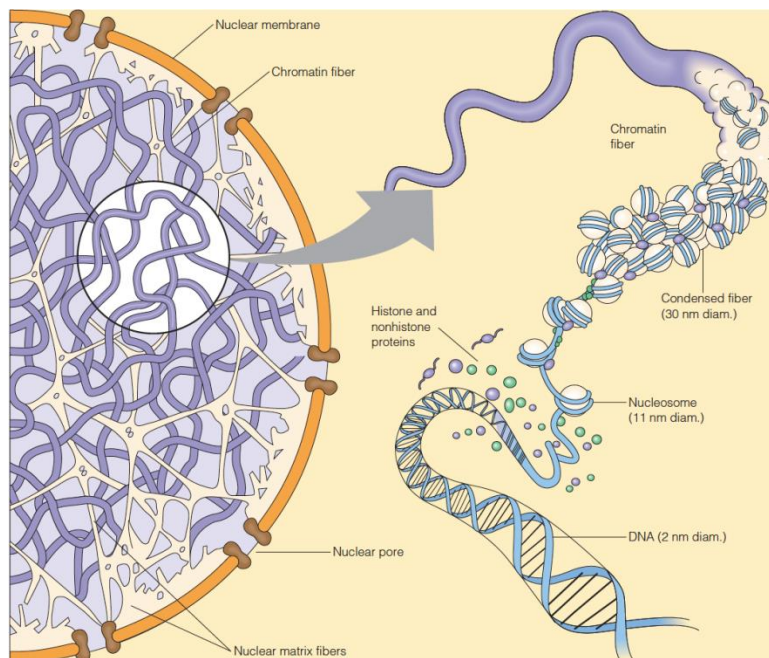
(3) Matrix Attachment Regions (MARs)

右圖是以果蠅 DNA 作為實驗：

1. 圖上每一個綠色箭頭代表了 Histone gene，箭頭方向代表了轉譯的方向。
2. 接著利用限制酶切割，只留下一小段 Attachment sequence(657bp)
3. 而後將該片段結合在 matrix 上時，其之間的關聯與結合並未受影響，此代表了位於相鄰 MARs 之間的 gene 才是真正和特徵表現相關的 gene。

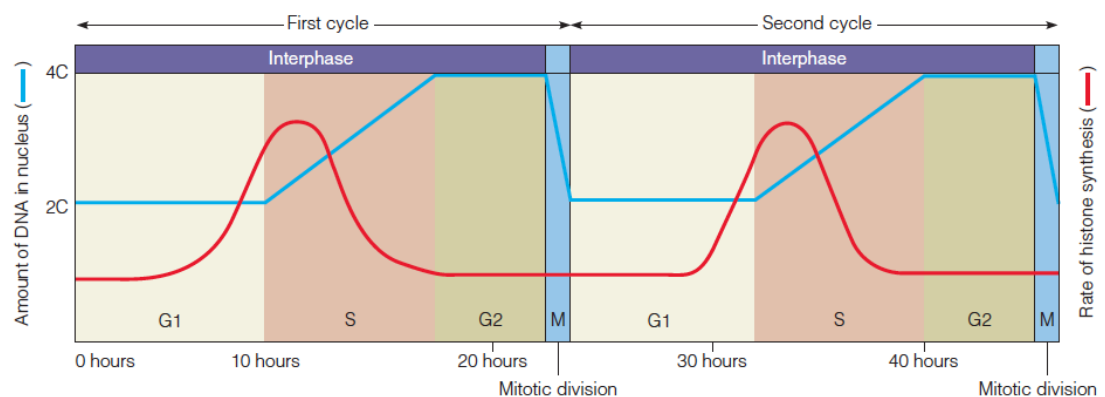


- Levels of chromatin structure



- (1)此圖為對 Nucleus 中部分 condensed chromatin fibers 的介紹。
- (2) condensed chromatin fibers(30nm)主要是由 nucleosome(11nm)、histone 以及 nonhistone protein 構成。
- (3)而 more-open chromatin 的區域被稱為 euchromatin，與 transcription 相關。通常 transcription 易發生在 euchromatin 上。

- The Cell cycle

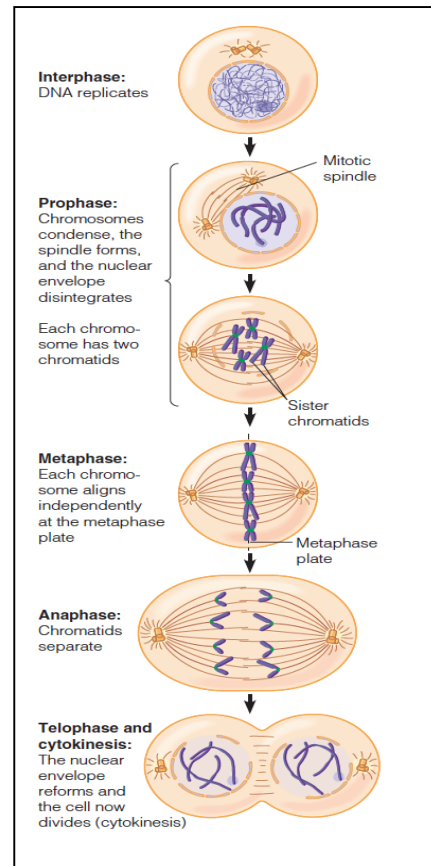


- (1)真核細胞需經歷以下四個時期：G1、S、G2 和 M
- (2)在 G1 期時，細胞會先行 doubling the DNA content 的動作。由於 new DNA 會需要 new histone 來做 chromatin，故在 G1 期時，histone 的合成為 DNA 複製初期的重要指標。在圖中，藍線即表 DNA contents 而紅線表 histone 的合成。(此時 DNA 為 2C，1C=one haploid genome)
- (3)進入 S 期後，DNA 被複製且 histons 及 nonhistone proteins 會和 daughter DNA 結合準備生成 chromatin 構造。

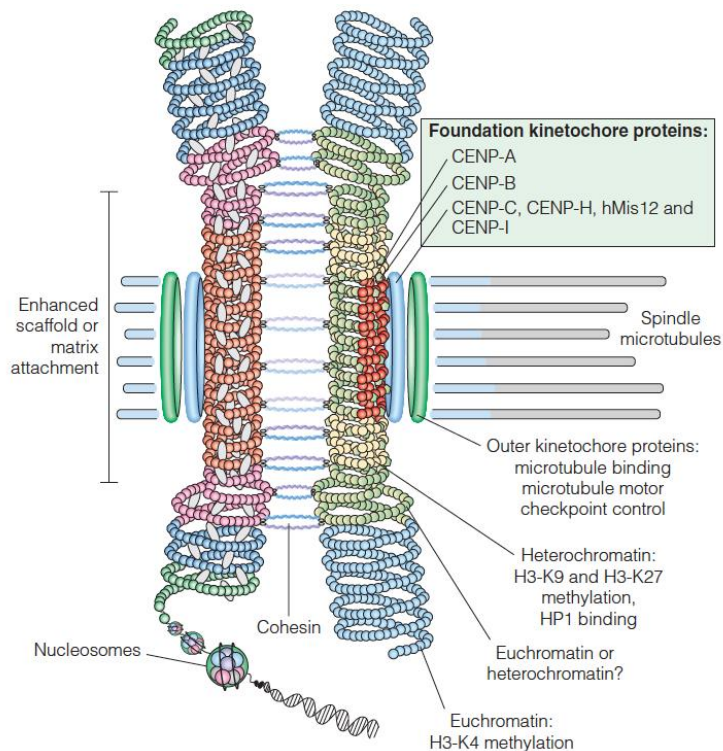
- (4)當複製完畢後，細胞進入 G2 期，此時 DNA contents 為 4C。
- (5) G1、S、G2 合稱為 interphase，而在這個期間，chromatin 會在 nucleus 中分散並主動地去參與 transcription。

● Mitosis

- (1)mitosis 都是由 DNA 為雙倍體(diploid)時開始。
- (2)mitosis 可分為 prophase、metaphase、anaphase 及 telophase 四個階段。
- (3)在 prophase，chromatin 濃縮成 chromosome、紡錘絲出現且核膜被分解。
- (4)在 metaphase 時，染色體附著到紡錘絲上並向 metaphase plate 移動。
- (5)在 anaphase 時，染色體分開為兩個獨立的姊妹染色單體(sister chromatids)，並各向細胞兩端移動。
- (6)最後於 telophase 時，細胞質分裂為兩部分(cytokinesis)，核膜再度形成，使得兩個子細胞各自擁有新的細胞核。



● Structural organization of chromatin in the human centromere



(1) Centromere

1. Centromere 是染色體分離重要的構造，而每一個染色體上都只有唯一一個結合位，其主要是藉由 kinetochore protein 和紡錘絲相連。

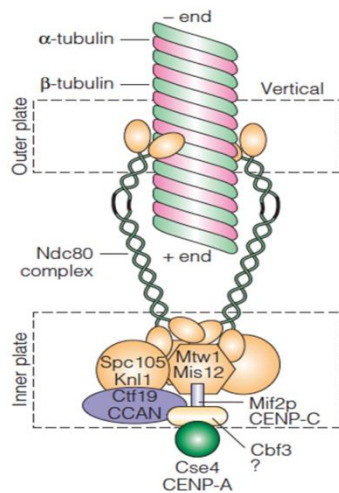
2. Centromere 可為簡單的構造，如酵母菌上的 centromere 只有 125bp，但在較高等的細胞中，centromere 上可能會有較多重複的 DNA 序列。

3. Centromere 所形成的 nucleosome 較為特別，其上有一特別的 H3 稱為 CenH3，與一般的 H3 完全不同，只在 centromere 上可見。

(2)kinetochore protein 可分為兩個部分，inner plate 和 outer plate。

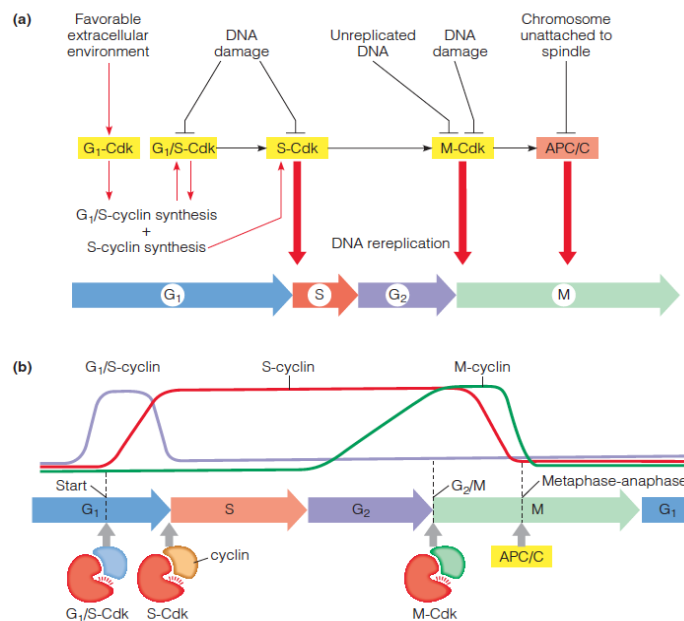
1. inner plate：可辨識 centromere 上的 CenH3，以便進行染色體分離。

2. outer plate：負責與 microtubules 相連。



此為酵母菌的 kinetochore protein 的構造圖。
而 Cse4 和 CENP-A 為 centromere 上被修飾過的 nucleosome。

● Control of the cell cycle



(a)
說明每個 checkpoint
和其所含的 Cdk。

(b)
說明了細胞週期中每一
一個 cyclin 的合成和
分解。

(1)Checkpoint

一種確保 cell cycle 每個階段都已準備完成的控制機制，而每個階段的 checkpoint 都有其專屬的 Cdk，如 G1 point 就含有 G1-Cdk。

(2)Cdk (cyclin-dependent kinase)

Cdk 為 serine/threonine kinase，他們的活性受到 cyclin 的影響，只有和 cyclin 結合成 cyclin-Cdk complex 才具有活性。細胞週期所使用到的 Cdk 約有以下四種：

1. G1 Cdk

確保環境的穩定及足夠的養分行細胞分裂

2. G1/s Cdk 和 S Cdk

偵測 DNA 是否有毀損，並暫停 cell cycle 直到毀損被修復完成

3. M Cdk

確認 DNA 是否有毀損及 DNA 複製是否已完成

4. APC/C(anaphase-promoting complex)

確認所有的 chromosome 是否都已跟紡錘絲相連

Cdk 和 cyclin 結合成 cyclin-Cdk complex 後，可 phosphorylate 一種甚至多種的 target protein，如：

1. G1 Cdk

其主要 target protein 為 Rb protein，可促使細胞週期從 G1 進入 S。

而 Rb 基因的突變則可能導致視網膜母細胞瘤的出現。

2. G1/s Cdk 和 S Cdk

其主要 target protein 為 p53，其主要功能如下：

(i)當 DNA 受損時，p53 蛋白能活化 DNA 修復蛋白 (DNA repair proteins)。

(ii)p53 蛋白能抑制細胞生長週期停留於 G₁/S 的節律點上，以達成 DNA 損壞辨識。

(iii)一旦 DNA 毀損過大，則促使 apoptosis 的產生。

p53 基因的 mutation 和大多數癌症相關，如 p53 基因缺失則可能會導致 Li-Fraumeni syndrome 的發生。

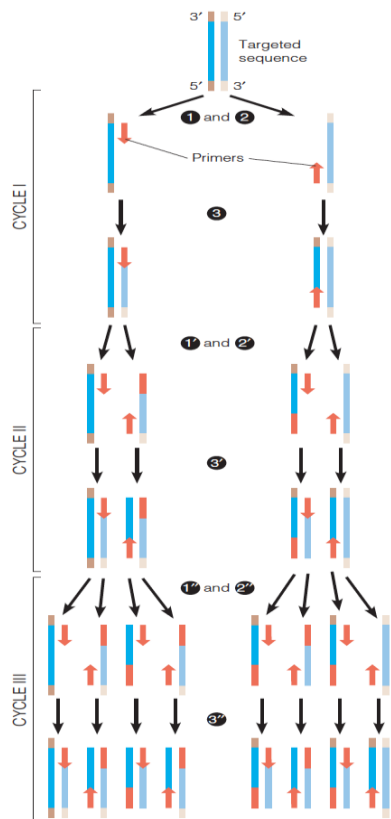
3. APC/C

其主要 target protein 都和 degradation 相關。

- Polymerase Chain Reaction(PCR)

(1)由 Kary Mullis 在 1983 年發明的技術，主要是為了能在活體外進行 DNA 片段的 amplification。

(2)欲進行 PCR，必須先提供一片段 DNA 作為 primer，才能使得 DNA polymerase 正確地進行複製。



圖中紅色片段即為 primer。