

1

» 期末成绩组成：

- 过程考核（20%）+ 实验（20%）+ 期末考试（60%）
- 过程考核的评估办法：
 - 到课出勤（5%）
 - 雨课堂考核（15%）

2

核酸部分

- 核酸的结构
- DNA的复制
- RNA的合成：转录
- 蛋白质的合成：翻译

3

一、核酸的结构

- 核酸的定义
- 核酸的种类和分布
 - DNA
 - RNA
- 核酸的基本结构单位
 - 核苷酸=碱基+戊糖+磷酸

4

核苷酸

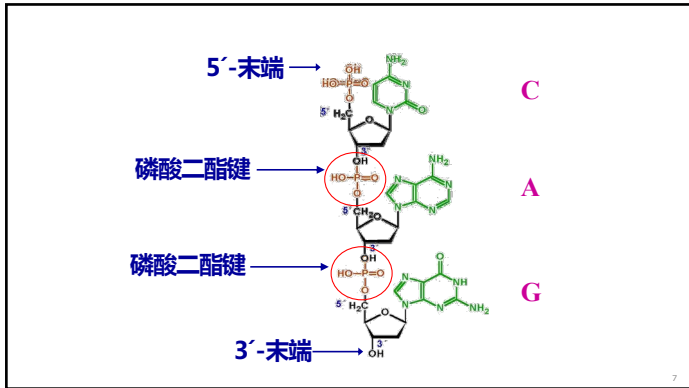
- 碱基的种类和缩写
- 戊糖的种类和区别
- 糖苷键、酯键

5

DNA的结构

- DNA的一级结构的定义、维持的作用力
 - DNA的书写表示

6



7

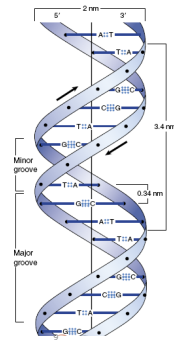
DNA的结构

- DNA的一级结构的定义、维持的作用力
 - DNA的书写表示
- DNA的二级结构定义、维持的作用力
 - DNA二级结构的特征

8

DNA 双螺旋结构模型要点

- 两条链
- 反向平行
- 右手螺旋
- 直径2nm，螺距3.4nm
- 外侧是脱氧核糖-磷酸骨架（亲水性），内侧是疏水的碱基
- 碱基互补配对
- 表面有大沟和小沟



9

DNA的结构

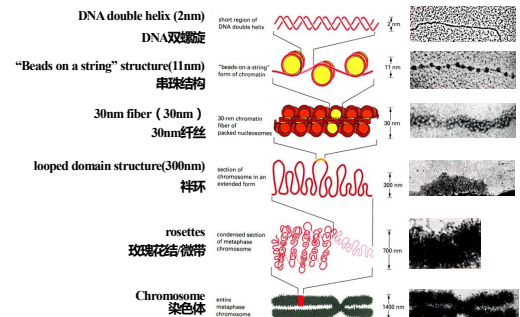
- DNA的一级结构的定义、维持的作用力
 - DNA的书写表示
- DNA的二级结构定义、维持的作用力
 - DNA二级结构的特征
- DNA的高级结构：超螺旋、真核生物的染色体

10

真核生物的染色体

- 染色质和染色体的区别
- 染色质的结构单位：核小体
 - 核小体的组成成分：DNA、组蛋白、非组蛋白
 - 组蛋白的种类
 - 组蛋白八聚体
- DNA和组蛋白如何包装形成染色体

11



12

二、DNA的复制

- 复制的定义，复制的方向
- DNA复制的特点
 - 半保留复制：如何证明
 - 半不连续复制
- DNA复制所需的成分：模板、引物、dNTP、DNA聚合酶，它们各自的作用
- 原核生物DNA聚合酶的都有哪些活性，每种活性的功能
- DNA复制的详细过程：都有哪些酶或蛋白，各自的作用是什么
- 冈崎片段是如何形成滞后链的
- 一些概念：滞后链，前导链，冈崎片段等

13

13

三、RNA的合成：转录

- 转录的定义，转录的方向
- 转录所需的成分：模板，NTP，RNA聚合酶，它们各自的作用
- 原核生物RNA聚合酶的结构与功能： σ 因子+ RNA聚合酶核心酶
- 转录的过程
 - 起始：如何起始，启动子
 - 延伸：如何延伸
 - 终止：如何终止，终止子

14

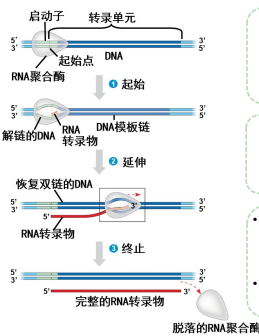
14

转录的过程

• 起始 (Initiation)

• 延伸 (Elongation)

• 终止 (Termination)



- 限速阶段
 1. RNA聚合酶与启动子识别
 2. 转录泡形成
 3. 启动子逃离

- RNA聚合酶
 - 5' → 3' 方向延伸
 - RNA聚合酶校对功能

- 终止子
 1. Rho因子非依赖性终止子
 2. Rho因子依赖性终止子
- 原核：
 - 转录翻译耦联

15

15

四、蛋白质的合成：翻译

- 翻译的定义，翻译的方向，密码子
- 翻译所需的成分：mRNA模板，氨酰tRNA，核糖体，蛋白因子，各自的功能
- 三种RNA分子的功能
- 核糖体上的A位点、P位点、E位点，肽酰转移酶和核糖体的关系
- 翻译的过程
 - 起始：如何起始，起始密码子
 - 延伸：如何延伸
 - 终止：如何终止，终止密码子

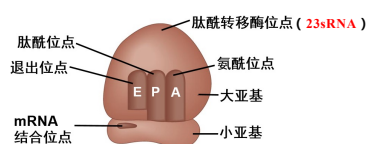
16

16

• 核糖体具有tRNA的三个结合位点：

- 肽酰位点 (Peptidyl site, P site)
- 氨酰位点 (Aminoacyl site, A site)
- 退出位点 (Exit site, E site)

• 三个位点都穿过大小两个亚基

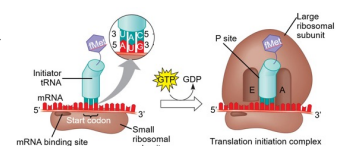


17

17

翻译的起始

- 起始：指mRNA和起始氨酰-tRNA分别与核糖体结合而形成翻译起始复合物的过程
 - 核糖体大小亚基分离
 - mRNA在小亚基定位结合
 - 起始氨酰-tRNA的结合
 - 核糖体大亚基结合



18

18

翻译的延伸

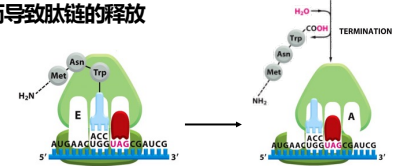
- 延伸：指在mRNA模板的指导下，氨基酸依次进入核糖体并聚合成多肽链的过程
 - 进位 (Positioning)
 - 成肽 (Peptide bond formation)
 - 转位 (Translocation)
- 每轮循环使多肽链增加一个氨基酸

19

19

翻译的终止

- 终止：当核糖体A位点出现mRNA的终止密码子，多肽链合成停止，肽链从肽酰-tRNA中释出，mRNA、核糖体大、小亚基分离
 - 释放因子 (Release factor) 结合在A位点
 - 释放因子给多肽链的羧基末端添加水分子而不是氨基酸，从而导致肽链的释放



20

20

专题1 基因工程

一、基因工程基本工具

1. “分子手术刀”——限制性核酸内切酶

- 来源：原核生物
- 作用：从DNA分子中间水解磷酸二酯键，切断双链DNA。靶序列一般是回文结构，也叫反向重复序列(6个、4、5、8个)
- 结果：产生平末端和黏末端

21

21

专题1 基因工程

2. “分子缝合针”——DNA连接酶

- 分类：
 - ✓ E.coli DNA连接酶 (黏性末端)
 - ✓ T4 DNA连接酶 (黏性末端和平末端)
- 作用部位：磷酸二酯键
- 连接双链DNA缺口，不能连接单链DNA

22

22

专题1 基因工程

3. “分子运输车”——载体

- 质粒的定义和特点
 - 裸露、结构简单、独立于细菌拟核DNA之外的双链环状DNA
 - 自我复制能力
 - 可插入外源DNA片段
 - 标记基因

23

23

专题1 基因工程

➢ 质粒作为载体的条件

质粒成为载体的必备条件！

- 具有复制起点ori序列 (Origin sequence)
- 携带筛选标记，通常为抗生素抗性基因
- 有多克隆位点，即能够被多种限制性核酸内切酶酶切的位点
- 具有较小的相对分子量和多拷贝数
- 安全性

24

24

专题1 基因工程

二、基因操作程序

- 1、获取目的基因
 - 2、构建表达载体
 - 3、导入受体细胞
 - 4、目的基因的检测与鉴定
- “分”
↓
“切”
“接”
↓
“转”
↓
“筛”

25

25

专题1 基因工程

二、基因操作程序

1. 目的基因的获取
 - 基因文库：基因组文库，cDNA文库
 - 人工合成
 - PCR扩增：原理，步骤

26

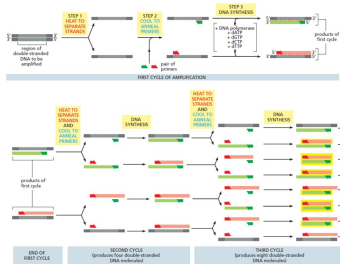
26

PCR体系基本组成成分

- 模板DNA
- 特异性引物
- Taq DNA聚合酶
- dNTPs

PCR的基本反应步骤

- DNA变性 (90°C-95°C)
- 退火 (复性55°C-65°C)
- 延伸 (70°C-75°C)



27

27

专题1 基因工程

二、基因操作程序

2. 基因表达载体的构建——DNA连接酶

- 构建目的
- 构建步骤
 - 表达载体
复制原点 + 目的基因 + 启动子 + 终止子 + 标记基因
 - 克隆载体
复制原点 + 目的基因 + 标记基因

28

28

专题1 基因工程

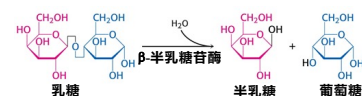
3. 目的基因导入受体细胞
 - 导入植物细胞：农杆菌转化法
 - 导入动物细胞：显微注射
 - 导入微生物细胞：感受态细胞法
4. 目的基因的检测与鉴定
 - 抗性筛选法
 - 蓝白斑筛选 (插入失活)
 - 菌落原位杂交
 - 限制性酶切图谱法
 - 核酸杂交
 - 蛋白电泳

29

29

显色筛选法：蓝白斑筛选

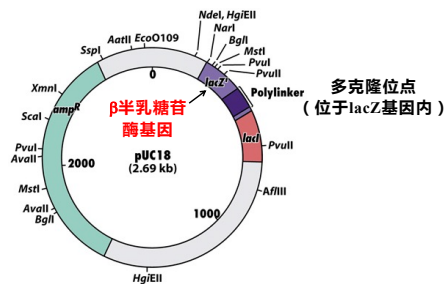
- Puc18/19质粒含有lacZ基因，该基因补充宿主中的lacZ基因的缺失
- 当pUC18/19进入宿主细胞，来自质粒的lacZ基因表达产生β-半乳糖苷酶
- β-半乳糖苷酶可以水解乳糖形成葡萄糖和半乳糖



30

30

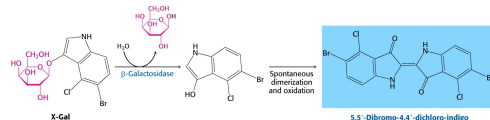
质粒pUC18/19携带lacZ基因



31

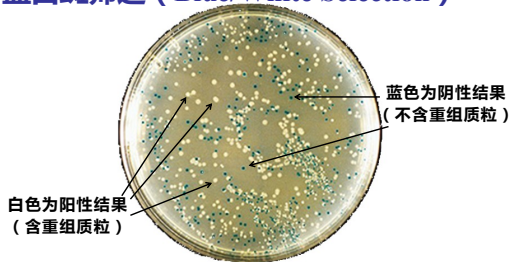
蓝白斑筛选 (Blue/White Selection)

- 5-溴-4-氯-3-吲哚-β-D-半乳糖苷 (5-Bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactopyranoside) 通常表示为X-gal, 是β-半乳糖苷酶的显色底物, 在β-半乳糖苷酶的催化下会产生蓝色产物



32

蓝白斑筛选 (Blue/White Selection)



Question: 蓝色菌落含有重组DNA分子还是白色的菌落含有重组DNA分子?

33

- 核酸杂交 (nucleic acid hybridization):**

用具有与该基因互补序列的**核酸探针 (nucleic acid probe)** 鉴定携带目的基因的克隆。

- 原位杂交 (In situ hybridization):**

原位杂交使用附着在探针上的**荧光染料**来鉴定完整生物中特定mRNA的位置

- 菌落原位杂交**

34

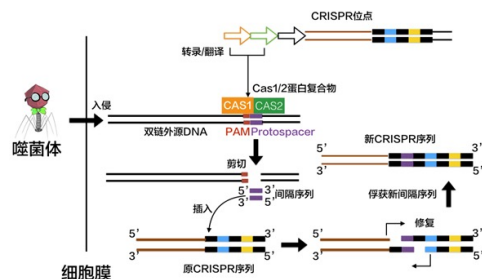
专题1 基因工程

三、基因工程的应用

- 转基因动物
- 转基因植物
- 基因编辑——CRISPR
 - CRISPR-Cas系统的工作原理
 - 应用
 - 转基因作物与基因编辑作物

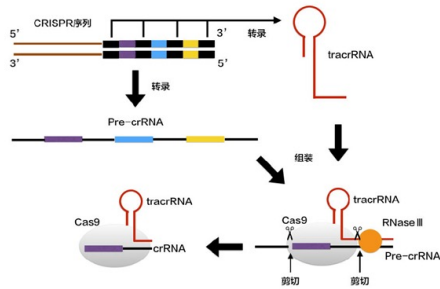
35

第一阶段：外源DNA的俘获



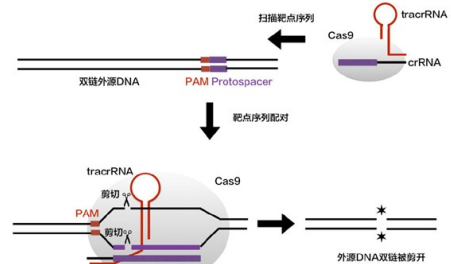
36

第二阶段：crRNA的产生



37

第三阶段：靶向干扰



38

专题2 细胞工程

一、植物细胞工程

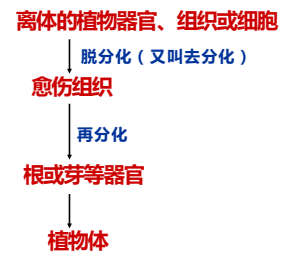
1. 植物细胞的全能性的概念

- 细胞全能性是指已经分化的细胞，仍然具有发育成完整生物体的潜能。
- 原因：每个细胞都包含该物种的全部遗传物质（全部基因）**
- 为什么生物体的细胞在发育过程中，表现出不同的结构和功能，没有表现出全能性？
基因在时间和空间上的选择性表达

39

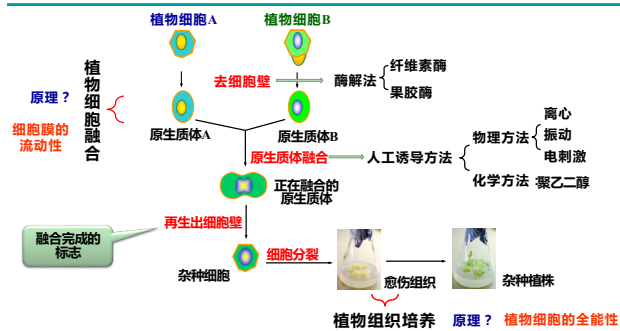
专题2 细胞工程

2. 植物组织培养过程



40

3. 植物体细胞杂交过程



41

专题2 细胞工程

4. 植物细胞工程的实际应用

二、动物细胞工程

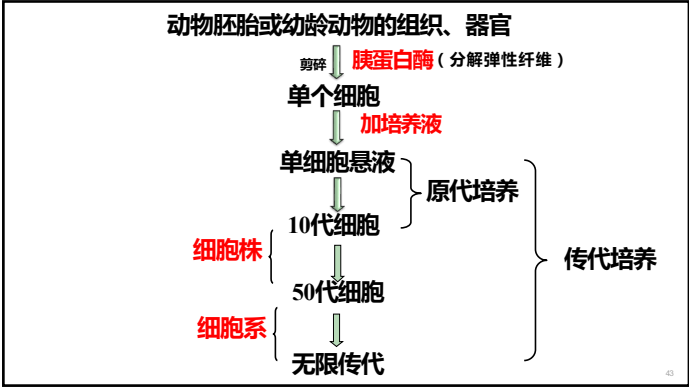
1. 动物细胞培养

- 操作过程
- 名词解释：细胞贴壁、接触抑制、细胞株、细胞系、原代培养、传代培养
- 比较植物组织培养和动物细胞培养

42

41

42



43

❖ **细胞株**

原代细胞一般传至10代左右细胞生长停滞，大部分细胞衰老死亡，少数细胞存活到40~50代，其**遗传物质没有发生变化**。

❖ **细胞系**

细胞株传代至50代后又出现细胞生长停滞状态，只有部分细胞由于**遗传物质的改变**，具有癌细胞的特点，失去接触抑制，使其在培养条件下可以无限制传代。

44

- **原代培养：**
从机体取出后立即培养的细胞为原代细胞。培养的第1代细胞与传10代以内的细胞称为原代细胞培养。
- **传代培养：**
当原代培养的细胞生长停止，这时如果要使细胞继续生长，就要及时用**胰蛋白酶**等，使细胞从瓶壁上解离下来，然后加入新的培养液，将**细胞分离稀释**，并从原培养瓶内转接到新的培养瓶内，这个过程称传代培养。

45

比较项目

46

专题2 细胞工程

2. 动物细胞核移植

- **核移植：**
 - 分成两大阶段：**核移植**和**胚胎移植**
 - 取**MII**期卵细胞作受体细胞：
卵细胞是最大的细胞，易操作； MII期卵细胞的细胞质发育成熟，可支持胚胎全程发育。
- **诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells , iPS)：**通过重编程向体细胞中导入特定的基因可以诱导产生多能干细胞。

47

专题2 细胞工程

3. 动物细胞融合

- 植物、动物细胞融合的比较

4. 单克隆抗体

- 单克隆抗体制备原理、过程、概念、特点

48

专题3 胚胎工程

一、体内受精和早期胚胎发育

1. 精子和卵子的发生过程，异同点
2. 精子细胞变形中的主要变化：
 - 1) 细胞核——精子头的主要部分（遗传物质）
 - 2) 高尔基体——头部的顶体（分泌作用）
 - 3) 中心体——精子的尾
 - 4) 线粒体——线粒体鞘膜（尾的基部）
 - 5) 细胞内其他物质——原生质滴（球状，最后脱落）

49

49

专题3 胚胎工程

一、体内受精和早期胚胎发育

3. 卵子的发生过程，精子卵子发生的异同点
 - 女性出生时卵巢中携带的是**初级卵母细胞**
 - **排卵**是指**次级卵母细胞**（停留在减II中期）从卵泡中释放出来的过程
 - 卵子受精的标志：在**卵细胞膜和透明带**的间隙可以观察到**两个极体**

50

50

专题3 胚胎工程

一、体内受精和早期胚胎发育

4. 受精

- 受精前的准备阶段
 - 1) 精子获能：精子必须在雌性动物的**生殖道**发生**相应的生理变化**后，才获得受精能力。
 - 2) 卵子的准备：在输卵管中发育到**减数第二次分裂的中期**，才具有与精子受精的能力。

51

51

专题3 胚胎工程

一、体内受精和早期胚胎发育

4. 受精

- 受精阶段
 - 1) 精子穿越放射冠和透明带
顶体反应，透明带反应
 - 2) 精子进入卵子
细胞膜反应
 - 3) 雄原核和雌原核形成
 - 4) 配子结合

52

52

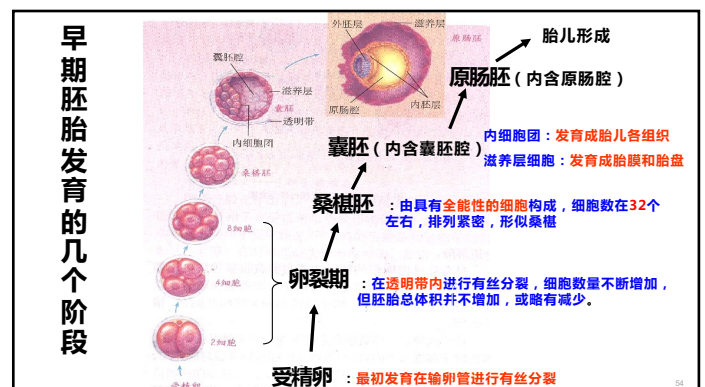
专题3 胚胎工程

一、体内受精和早期胚胎发育

1. 精子和卵子的发生过程，异同点
2. 精子细胞变形中的主要变化
3. 卵子的发生过程，精子卵子发生的异同点
4. 受精
5. 胚胎发育

53

53



54

54

专题3 胚胎工程

一、体内受精和早期胚胎发育

二、体外受精和早期胚胎培养

55

55

期末考试时间

未定

题型：

一、单项选择题（1分×40=40分）

二、多项选择题（2分×5=10分）

（选对但不全，得1分，选错不得分）

三、填空题（20分）

四、问答题（30分）

56

56