

天津医科大学理论课教案首页

(共 5 页、第 1 页)

课程名称：生物信息学		课程内容/章节：第四章（4.1）DNA 序列信息分析	
教师姓名：伊现富	职称：讲师	教学日期：2018 年 5 月 18 日 10:00-12:00	
授课对象：基础医学院 2015 级基础班（本）		听课人数：18	
授课方式：理论讲授	学时数：2	教材版本：生物信息学：基础及应用	

教学目的与要求 (分掌握、熟悉、了解、自学四个层次)：

- 掌握限制性核酸内切酶的命名规则及 II 型限制酶特点；CpG 岛的概念及其识别依据和判别标准。
- 熟悉 DNA 序列分析的常见内容；ORF 分析中相位概念；原核和真核基因启动子的结构。
- 了解 DNA 携带的两类遗传信息；DNA 序列分析相关的数据库和工具；ORF 和 CDS 的定义与区别。
- 自学 DNA 序列分析数据库和工具的使用方法。

授课内容及学时分配：

- (5') 引言与导入：回顾中心法则，阐释核酸序列携带的两类遗传信息。
- (30') DNA 组份分析与序列转换：回顾 Chargaff 法则，讲解 GC 含量的定义与计算，介绍组份分析和序列转换的原理和思路，讨论解决问题的基本策略。
- (15') 限制性核酸内切酶位点分析：讲解限制性核酸内切酶的概念、命名规则和 II 型限制酶的特征，介绍常用的数据库与分析工具。
- (10') 开放阅读框分析：讲解相位概念以及 ORF 与 CDS 的定义和区别，介绍常用的 ORF 分析工具。
- (10') 启动子分析：讲解启动子与转录因子的基本概念，回顾原核基因和真核基因启动子的结构，介绍相关数据库与工具。
- (15') CpG 岛识别：讲解 CpG 岛的概念、识别依据和判别标准，介绍识别 CpG 岛的计算工具。
- (10') EMBOSS 简介：介绍 EMBOSS 软件包及其中常用的程序。
- (5') 总结与答疑：总结授课内容中的知识点与技能，解答学生疑问。

教学重点、难点及解决策略：

- 重点：限制酶的命名规则，CpG 岛的识别依据和判别标准。
- 难点：开放阅读框中相位概念。
- 解决策略：通过示意图和实例帮助学生理解、记忆。

专业外语词汇或术语：

中心法则 (central dogma)	编码序列 (Coding Sequence, CDS)
GC 含量 (GC content)	启动子 (promoter)
限制性核酸内切酶 (restriction endonuclease)	转录因子结合位点 (TFBS)
开放阅读框 (Open Reading Frame, ORF)	CpG 岛 (CpG island)

辅助教学情况：

- 多媒体：展示中心法则、开放阅读框相位、启动子结构等的示意图。
- 板书：序列的书写惯例，限制酶的命名规则，CpG 岛的识别依据和判别标准。

复习思考题：

- 简述 DNA 携带的两类遗传信息及常见的分析内容。
- 简述限制酶的命名规则及 II 型的主要特点。
- 简述 ORF 与 CDS 的定义和区别。
- 简述 CpG 岛的概念、识别依据和判别标准。
- 论述分析任务属性和解决问题的基本策略。

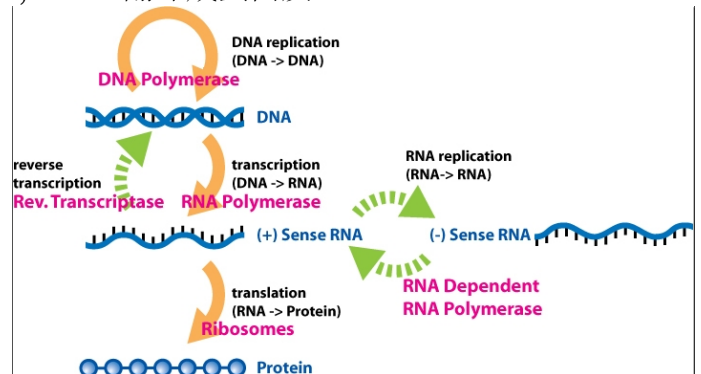
参考资料：

- 朱玉贤，李毅，郑晓峰。现代分子生物学（第 3 版），高等教育出版社，2007。
- 维基百科。

一、引言与导入 (5 分钟)

1. 分子生物学的中心法则：DNA 转录成 RNA，RNA 翻译成蛋白质。

- DNA：携带最原始的决定个体性状的遗传信息
- RNA：参与遗传信息的表达和调控
- 蛋白质：执行特定的生物功能从而决定最终的表型
- 排列顺序蕴含生物信息：类似于二进制中运用一连串的 0 和 1 以及英文字母表中运用 26 个不同的字母来表达信息 (通过类比进行说明)



2. DNA 携带两类遗传信息

- 功能序列：具有功能活性的 DNA 序列，遗传的基本单位
- 调控信息：特定的 DNA 区域，能被功能性蛋白质分子特异地识别结合

3. DNA 序列分析

- 基本信息：碱基组份，GC 含量，序列转换，限制性核酸内切酶位点，……
- 特征信息：开放阅读框，启动子，转录因子结合位点，CpG 岛，……

二、DNA 组份分析与序列转换 (30 分钟)

以 **Chargaff 法则** 引申出序列组份分析、序列转换的内容与原理。

1. Chargaff 法则

- $A = T, G = C \Rightarrow$ 序列长度，碱基数目及比例，序列转换
- AT/GC 的比值因生物种类不同而异 \Rightarrow GC 含量

2. GC 含量

- 鸟嘌呤 (G) 和胞嘧啶 (C) 所占的比例
- GC content: $\frac{G+C}{A+T+G+C} \times 100$
- GC ratio: $\frac{A+T}{G+C}$

3. 序列转换

- 反向序列，互补序列
- 反向互补序列 \Rightarrow 序列书写惯例
- 显示 DNA 双链
- 转换为 RNA 序列

4. 序列书写惯例

- DNA/RNA: [左] 5' \Rightarrow 3' [右]
- 多肽/蛋白质: [左] N 端 (氨基端) \Rightarrow C 端 (羧基端) [右]

5. 分析解决问题的策略

- 以计算 GC 含量为例 (使用简单例子易于学生理解)
- 任务属性决定解决策略 (使用序列长短、数目多少的实例进行讲解)

三、限制性核酸内切酶位点分析 (15 分钟)

1. 限制性核酸内切酶

- 定义：识别 DNA 特异序列、并在识别位点或其周围切割双链 DNA 的内切酶
- **【重点】** 命名规则 (以 **EcoRI** 为例)
 - 属名的第一个字母
 - 种名的前两个字母
 - 细菌的菌株/品系
 - 同一品系中的发现顺序

Derivation of the EcoRI name		
Abbreviation	Meaning	Description
E	<i>Escherichia</i>	genus
co	<i>coli</i>	species
R	RY13	strain
I	First identified	order of identification in the bacterium

• II 型限制酶的特点 (以 *EcoRI*、*AluI* 等实例加深学生的印象)

- 识别、切割位点专一
- 识别序列：4-8 个碱基，回文对称结构
- 切割序列：识别序列，切割位点对称
- 切割末端：黏性末端，平滑末端
- 黏性末端：切割位点在回文序列的一侧
- 平滑末端：切割位点在回文序列的中间

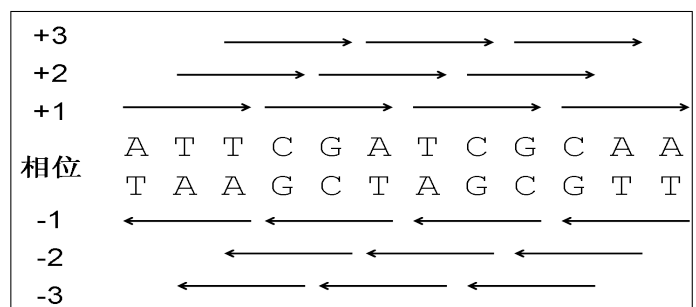
酶名称	来源	识别序列	切法
<i>EcoRI</i>	<i>Escherichia coli</i>	5'GAATTC 3'CTTAAG	5'---G AATC---3' 3'---CTTAA G---5'
<i>AluI</i> *	<i>Arthrobacter luteus</i>	5'AGCT 3'TCGA	5'---AG CT---3' 3'---TC GA---5'

2. 相关资源

- 数据库：REBASE 收录了限制酶的所有信息
- 分析工具：NEBCutter V2.0 产生 DNA 序列的酶切位点分析结果

四、开放阅读框分析 (10 分钟)

1. ORF：开放阅读框
2. 【难点】frame：相位 (通过示意图加深理解)
3. CDS：编码序列
4. ORF vs. CDS：理论预测 vs. 实验证实
5. 分析工具：ORF Finder

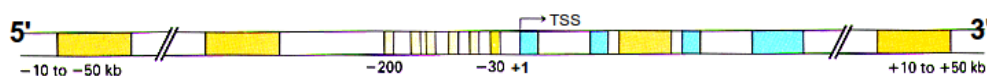


五、启动子分析 (10 分钟)

1. 转录调控
 - 顺式作用元件：核酸序列 \Rightarrow 启动子
 - 反式作用因子：蛋白质
 - 两者相互作用实现转录调控

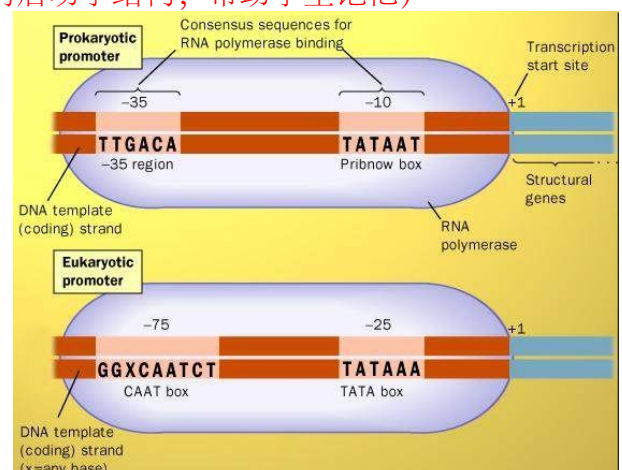
2. 启动子

- 基本概念
 - 启动子：一段位于转录起始位点 5' 端上游区的 DNA 序列
 - 转录起始位点：与新生 RNA 链第一个核苷酸相对应 DNA 链上的碱基 (图示 TSS 附近的坐标)



• 启动子结构 (图示、对比原核和真核基因的启动子结构，帮助学生记忆)

- 原核基因
 - * -10 区, -10, TATAAT
 - * -35 区, -35, TTGACA
- 真核基因
 - * TATA box, -25~-30, TATAAA
 - * CAAT box, -70~-80, CCAAT



3. 转录因子

- 转录因子：蛋白质
- 转录因子结合位点：DNA 序列，5~20bp

4. 相关资源

- 数据库：EPD; TRANSFAC
- 分析工具：Promoter Scan, Promoter 2.0; Tfbblast

六、CpG 岛识别 (15 分钟)

1. CpG 岛简介

- CpG 保持或高于正常概率的基因组区段
- 一般位于基因 (尤其是看家基因) 的 5' 端区域, 长度约 300~3000bp; 大多数未甲基化

2. 【重点】识别依据与判别标准 (提醒学生判别标准不是唯一的)

- GC 含量: 50% → 55%
 - CpG 岛的长度: 200bp → 500bp
 - CpG 二核苷酸的出现频率: 60% → 65%
- (计算公式: $\frac{Num\ of\ CpG}{Num\ of\ C \times Num\ of\ G} \times Total\ number\ of\ nucleotides\ in\ the\ sequence$)

3. 分析工具: EMBOSS (CpGPlot/CpGReport/Isochore)

七、EMBOSS 简介 (10 分钟)

1. EMBOSS 简介

- 开源、免费的序列分析软件包, 整合了目前可以获得的大部分序列分析软件
- 可以将系列分析工作进行无缝整合, 弥补了许多软件功能分散、分析效率低下的缺陷

2. 使用界面

- 操作系统: Linux, Mac, Windows
- JEMBOSS: java 界面
- EMBOSS Explorer: web 界面

3. 主要程序

- 最重要的程序。Wosname: 根据关键字查找程序; Showdb: 显示所有整合的数据库。
- 序列编辑。Revseq: 将序列反转并互补; Seqret: 序列格式转换。
- 两个序列相似性图形表达。Dottup: 精确匹配; Dotmatcher: 近似匹配。
- 双序列比对。Needle: 全局比对; Water: 局部比对。
- 多序列比对。Emma: clustalW。
- 寻找 SNP。Deffseq: 仅限于双序列比对中。
- 其他。Plotorf, Getorf: 翻译; Iep: 等电点预测; Tmap: 跨膜区预测; Pepinfo: 蛋白质性质; Patmatmotifs: Motif 搜索。

4. 使用实例: 以使用 EMBOSS 识别 CpG 岛的实例操作加深学生对 CpG 岛识别依据和标准的理解, 同时熟悉 EMBOSS 的使用方法

八、总结与答疑 (5 分钟)

1. 知识点

- DNA 序列基本信息分析: Chargaff 法则, GC 含量, 序列转换
- 限制性核酸内切酶位点分析: 命名规则, II 型核酸酶的特点
- 开放阅读框分析: 相位, ORF 和 CDS 的区别
- 启动子分析: 原核基因和真核基因的启动子结构
- CpG 岛识别: 概念、识别依据及判别标准

2. 技能

- 任务属性决定解决方案
- 寻找最合适的方法
- 先易后难, 由浅入深