关于DNA的问题

1. 形成发夹DNA结构的条件

满足一定区域内的碱基互补,单链分子都可以形成发夹结构,无论DNA还是RNA；首先经过高温（90℃以上）加热，然后缓慢冷却至室温；DNA需要处在一定的离子缓冲液中（比如含Mg2+）或者TE buffer中

1. 在筛选DNA序列的过程中，怎样确定选取的几条DNA之间没有杂交

DNA分子杂交的基础是，具有互补碱基序列的DNA分子，可以通过碱基对之间形成氢键等，形成稳定的双链区。在进行DNA分子杂交前，先要将两种生物的DNA分子从细胞中提取出来，再通过加热或提高pH的方法，将双链DNA分子分离成为单链，这个过程称为变性。然后，将两种生物的DNA单链放在一起，进行southern blot杂交，其中一种生物的DNA单链事先用同位素,地高辛，生物素等进行标记。如果两种生物DNA分子之间存在互补的部分，就能形成双链区。能够通过紫外扫描成像系统检测出来。

1. DNA与酶是通过什么方式结合的

DNA限制性内切酶能特异地结合于一段被称为限制性酶识别序列的DNA序列之内或其附近的特异位点上,并切割双链DNA。它可分为三类:Ⅰ类和Ⅲ类酶在同一蛋白质分子中兼有切割和修饰(甲基化)作用且依赖于ATP的存在。Ⅰ类酶结合于识别位点并随机的切割识别位点不远处的DNA，而Ⅲ类酶在识别位点上切割DNA分子,然后从底物上解离。Ⅱ类由两种酶组成: 一种为限制性内切核酸酶(限制酶),它切割某一特异的核苷酸序列; 另一种为独立的甲基化酶,它修饰同一识别序列。Ⅱ类中的限制性内切酶在分子克隆中得到了广泛应用，它们是重组DNA的基础。绝大多数Ⅱ类限制酶识别长度为4至6个核苷酸的回文对称特异核苷酸序列(如EcoRⅠ识别六个核苷酸序列:5'- G↓AATTC-3'),有少数酶识别更长的序列或简并序列。Ⅱ类酶切割位点在识别序列中,有的在对称轴处切割,产生平末端的DNA片段(如SmaⅠ:5'-CCC↓GGG-3');有的切割位点在对称轴一侧,产生带有单链突出末端的DNA片段称粘性未端, 如EcoRⅠ切割识别序列后产生两个互补的粘性末端。

DNA外切酶是一类能从多核苷酸链的一端开始按序催化水解3、5-磷酸二酯键，降解核苷酸的酶。其水解的最终产物是单个的核苷酸（DNA为dNTP，RNA为NTP）。按作用的特性差异可以将其分为单链的核酸外切酶和双链的核酸外切酶。

DNA聚合酶 , 以DNA为复制模板，将DNA由5'端点开始复制到3'端的酶。

4、三维DNA的构建原理以及优势

原理：利用显微镜扫描DNA样品表面形貌试验数据，基于MATLAB等软件实现从扫描图像中提取DNA几何特征，然后在虚拟环境中构造DNA分子的三维几何模型，进行虚拟操纵仿真及其可视化的研究。优势：1）为DNA分子从纳米级别上观察和操纵提供了一个全新的人机交互接口2）基于网络通讯实现PC机操纵系统和UNIX-VR可视化系统上虚拟操纵场景的同步，从而实现三维立体的视觉感知和作用力反馈的触觉感知等身临其境的多通道感受；3）对模拟探针的动态轨迹进行直线逼近后可以转换为图像扫描指令，为远程控制图像扫描进行纳米操纵作初步的指导。

1. DNA杂交设计链的时候，有些除了互补配对碱基之外，有些含有——CH2是为什么？

“三磷酸腺苷夹心式电化学发光适体传感器的研究”,设计了一种基于夹心式检测三磷酸腺苷的电化学发光适体传感器。碱基序列为5’-NH2-(CH2)6-ACC TGG GGG AGTAT-3’捕获探针通过与酰胺氯交联共价键结合到修饰了对氨基苯磺酸的石墨电极表面。在没有三磷酸腺苷时,碱基序列为5’-TGC GGA GGA AGG T-(CH2)2-NH2-Rul-3’的电化学发光探针与捕获探针相互作用很弱,电化学发光信号小。当加入三磷酸腺苷后,电化学发光探针与捕获探针间的结合能力增强使得电化学发光信号增加（孙波，2010基于共价键固定探针的电化学发光适体传感器的研究）。

Eg: 捕获适体（S1）：5′-NH2 - （CH2）6 -CAGTTTGGAC-3′

信号适体（S2）：5′-NH2 -GTCCTTTCTG-3′

与 (S1) 5′ -NH2-(CH2)6-CAGTTTGGAC-3′

(S2) 5′ -NH2-GTCCTTTCTG-3′

5′-NH2 -（CH 2）6 -TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT-P- 3′;

tDNA，5′ -SH-（CH2）6-AAA AAA AAA AAA AAA AAA AAA AAA-3′

6、若两个链若干个碱基互补配对、另外几个碱基不互补配对时，能杂交吗？杂交率怎么样？若能杂交，两条链中能互补配对的碱基的比例有讲究吗？与能互补配对碱基的位置（连续度）有关系吗？

能杂交，杂交率高低看不能互补配对的碱基的多少，不能配对的碱基越多，杂交率相对较低。两条链中碱基互补配对的碱基尽量选择富含GC的区域，3’要求完全配对，5’端不完全配对也可以杂交

Eg: P1: 5′-TTC TTT CAT TTC TTT CTT CG-3′,

P2: 5′-CG TTG TTT GTT ATG TTT GTT-3′

probe 1: 5′-HS–(CH2)6–AAAGTTGTGTTCAGTTGC-3′;

probe 2: 5′-HS–(CH2)6–AAAAAAAAAAGCTTCTGTTCTCT-3′.

7、汞离子会与T碱基形成T-Hg2+-T类似双链结构，利用这个性质可使两条链杂交。若杂交的两条链都是poly7T,只是修饰的基团不一样，若第二条链与Hg2+混合后再与另一条链杂交（看这里的Hg2+量，如果过高，则不提高杂交率），那DNA2彼此杂交也可与Hg形成T-Hg2+-T类似双链结构，会导致DNA1与DNA2杂交率降低。提高Hg2+的浓度是否会适当提高DNA1与DNA2的杂交率？

可能会提高

DNA1：5′-SH -TTT TTT T - 3′

DNA2：5′-Bio -TTT TTT T - 3′

8、对DNA分子识别的信号干扰因素

9、DNA链（ssDNA/dsDNA）对靶分子结合力

DNA链对磁性颗粒结合力

DNA链对荧光供体（荧光素、量子点）

DNA链对荧光猝灭物质

结合力或解离常数比较

10、DNA链长度、种植和杂交密度对靶分子结合能力影响吗

对于DNA杂交来说，DNA探针的长度在1000bp的时候，杂交效果比较好，种植和杂交密度没听说过

11、在光电化学信号类型方案中的量子点与DNA适体链的结合

12、在构建模型时所常用的发夹型DNA的结构特性及搭建一些物理屏障稳定性强弱

DNA链具有柔性，柔性对传感器制备的一些影响。

DNA双链结合，3’端和5’有何影响？

3’ 要求完全互补，5’端可以不完全互补

形成双链之后的沟槽会不会吸附很多的探针分子？

做DNA杂交的时候，只有形成单链的时候，DNA才能与探针分子结合，所以双链DNA不能结合探针分子。

适体链和目标物的结合能不能经受离心或者超声？

在设计互补链时需要遵循什么原则？

18、两条DNA链分离时质量差最少为多少？

DNA链长度怎样计算？质量怎样计算？

双螺旋结构中每个核苷酸之间上升0.15纳米,每圈3.6个氨基酸残基,故每圈上升0.54纳米.

一个单链DNA分子摩尔数=DNA的克数/DNA分子量

1个脱氧核糖核酸碱基的平均分子量为333 Daltons

1 μg 1,000bp DNA = 1.52 pmol

DNA克数=1,000\*333\*1.52pmol

DNA摩尔数计算 若已知一段DNA的具体序列，算出四种碱基的个数，按A=312 C=288 G=328 T=303 乘以各自个数之和，即为分子量。 关于分子量，也可以采用平均分子量的近似算 法：MW=碱基个数×324.5 举例：一管标为5 OD260的20mer Oligo DNA： TGG GCG GCG GTT GGT GTT AC A=1 C=3 G=10 T=6 MW=(1×312)+(3×288)+(10×328)+(6×303)-61=6213 近似算 法： MW=20×324.5=6490

DNA单链是否会出现自身配对？

会，只要符合碱基互补配原则的地方就可以配对。

21、DNA双链多长时会发生自身折叠？