**2013年分子生物学试题**

**一、名词解释**

1、Ribozyme核酶

具有催化功能的RNA分子，是生物催化剂，通过催化靶位点RNA链中磷酸二酯键的断裂，特异性地剪切底物RNA分子，从而阻断靶基因的表达。

2、Missense Mutation错义突变

编码某种氨基酸的密码子经碱基替换以后,变成编码另一种氨基酸的密码子,从而使多肽链的氨基酸种类和序列发生改变。错义突变的结果通常能使多肽链丧失原有功能，许多蛋白质的异常就是由错义突变引起的。

3、Insulator绝缘子

真核生物基因组的调控元件之一，亦为一种边界元件，在增强子和启动子之间，阻止二者的作用，保证激活因子分开作用。

4、RNA trans-splicing  RNA反式剪接

两条不同的pre-mRNA的外显子连接到一起。与正常的顺式剪接不同，这里的两段外显子是来自不同的pre-mRNA的，但却可能来自同一基因。

5、Nucleotide excision repair 核苷酸切除修复

简称NER，是通过损伤识别，把包含全基因组的核苷酸切除修复。

6、Transposon转座子

一段可在基因组上移动的序列，可从一个位点上切除下来，并插入到另一位点上，从而产生DNA的重组

7、Dam methylase甲基化酶

甲基化酶是作为限制与修饰系统中的一员，用于保护宿主 DNA 不被相应的限制酶所切割。Dam 甲基化酶可在 GATC 序列中的腺嘌呤 N6 位置上引入甲基。

8、spliceosome剪接体

进行RNA剪接时形成的多组分复合物，其大小为60S，主要是由小分子的核RNA和蛋白质组成。

9、core promoter核心启动子

保证RNA聚合酶Ⅱ转录正常起始所必需的、最少的DNA序列，包括转录起始位点及转录起始位点上游TATA区。

10、SNP单核苷酸多态性

在基因组水平上由单个核苷酸的变异所引起的DNA序列多态性。它是人类可遗传的变异中最常见的一种，在人类基因组中广泛存在。

**二、简答题**

1、请简述真核生物mRNA的5’帽结构有何生物学功能？其缺失会造成什么后果？

功能：（1）防止mRNA降解，（2）使mRNA能够运出核，（3）招募启动子，提高翻译效率，（4）拼接第一个内含子。

缺失后无法使mRNA进入细胞质中并起始翻译，在细胞核内被降解

2、某一基因开放阅读框中的一个碱基突变会对该基因编码产物产生怎样的影响？

（1）缺失或增加，发生移码突变，该位点以后所有密码子读取发生错误，翻译出的蛋白质在此氨基酸后产生连续错误，并可能因无法识别终止密码子而终止翻译。

（2）碱基改变。①同义突变，密码子改变后对应的氨基酸相同，翻译过程正常进行，可产生有功能的蛋白质；②错义突变，改变了当前位点对应的氨基酸，翻译出的蛋白质有一个氨基酸错误，功能受到影响；③无义突变，非终止密码子突变成终止密码子，翻译提前终止，产生一段比原多肽链短的多肽链。

3、请简述真核生物的mRNA和原核生物的mRNA有何不同。

但两者有很多区别,如下：

（1）**基因数目：**原核生物mRNA常以多顺反子的形式存在.真核生物mRNA一般以单顺反子的形式存在.

（2）**转录与翻译：**原核生物mRNA的转录与翻译一般是偶联的,真核生物转录的mRNA前体则需经转录后加工,加工为成熟的mRNA与蛋白质结合生成信息体后才开始工作.

（3）**半衰期：**原核生物mRNA半衰期很短,一般为几分钟.真核生物mRNA的半寿期较长,有的可达数日.

（4）**结构：**真核生物mRNA由5′端帽子结构、5′端不翻译区、翻译区、3′端不翻译区和3′端聚腺苷酸尾巴组成,原核生物mRNA无5′端帽子结构和3′端聚腺苷酸尾巴.

4、请简述Ⅰ型内含子剪切过程。ORF中单个碱基改变对基因表达产物的影响。

I型内含子即能自我剪切的rRNA内含子。两次转脂反应，第一次在分支位点的A和外显子3’位点进行，第二次在外显子3’位点和内含子3’位点进行。

5、简述Western blot的原理和步骤。

Western Blot法采用的是聚丙烯酰胺凝胶电泳，被检测物是蛋白质，“探针”是抗体，“显色”用标记的二抗。经过PAGE（聚丙烯酰胺凝胶电泳）分离的蛋白质样品，转移到固相载体（例如硝酸纤维素薄膜）上，固相载体以非共价键形式吸附蛋白质，且能保持电泳分离的多肽类型及其生物学活性不变。以固相载体上的蛋白质或多肽作为抗原，与对应的抗体起免疫反应，再与酶或同位素标记的第二抗体起反应，经过底物显色或放射自显影以检测电泳分离的特异性目的基因表达的蛋白成分。该技术也广泛应用于检测蛋白水平的表达。

电泳-转移-一抗-二抗-检测

**三、论述题**

1、研究基因功能通常是降低或者升高基因表达水平，请简要说出三种相关研究方法及原理。

RNAi，基因敲除，蛋白泛素化修饰

2、mRNA和蛋白质的降解是一个有序的过程，其中microRNA和泛素起了非常重要的作用。请阐述microRNA的概念、产生过程、作用机制，或者泛素的概念和蛋白质泛素化的过程。（二者只需选择一种进行阐述）

MicroRNA (miRNA) 是一类由内源基因编码的长度约为22 个核苷酸的非编码单链RNA 分子，它们在动植物中参与转录后基因表达调控。

通过两步切割产生：①drosha，识别ssrna与dsrna接头（结构而非序列），切割成pre-mirna。②dicer，切割成mirna，并可引导和搭载其至靶位点。Sirna不需要drosha切割。

与靶mrna结合介导其降解，抑制急眼表达

作用：调控线虫、脊椎动物的发育，控制植物表型（拟南芥叶型），调控造血干细胞向淋巴细胞分化。有些病毒可以编码miRNA。

3、某实验需要将1kb的cDNA片段插入某氨苄青霉素抗性的表达载体，在片段两端各有一个EcoRl位点，靠近5’端300bp的地方有一EcoRv位点，载体多克隆位点从5’端依次为BamHl，Hindllll，EcoRl，EcoRv和Xhol位点。

实验设计步骤如下：

1. 用EcoRl处理载体，然后用碱性磷酸酶处理。
2. 用EcoRl处理片段，然后与步骤（1）中的载体混合，加入DNA连接酶，在适当的条件下使cDNA片段与载体连接。
3. 连接产物转化到大肠杆菌，并在含有氨苄青霉素的LB平板上生长。

除此之外，还设了以下对照：

对照1：在含有抗生素的平板上涂布未被转化的大肠杆菌感受态细胞。

对照2：用未被酶切处理的载体转化大肠杆菌感受态细胞，并在含有抗生素的平板上生长。

对照3：用EcoRl处理的载体，不用碱性磷酸酶处理，不加cDNA片段，然后加连接酶做连接反应，并转化大肠杆菌感受态细胞，在含有抗生素的平板上生长。

对照4：除了用碱性磷酸酶处理外，其他同对照3。

某学生做了三次实验，结果如表：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | 克隆数 | | |
| 实验1 | 实验2 | 实验3 |
| 对照1 | 太多，无法计算 | 0 | 0 |
| 对照2 | 太多，无法计算 | 0 | 大于1000 |
| 对照3 | 太多，无法计算 | 0 | 350 |
| 对照4 | 太多，无法计算 | 0 | 25 |
| 实验组 | 太多，无法计算 | 0 | 34 |

请回答下列问题：

问题1：四个对照各有什么用？

问题2：为什么要用碱性磷酸酶处理？

问题3：哪次实验数据比较合理，为什么？其他次实验失败的原因可能是为什么？

问题4：设计实验鉴定克隆是否正确？

试卷来源：并不知道

答案收集：15生技1杨家益

如有错误……哈哈很正常反正我比较菜