

## 浙江大学 2000 年分子生物学试题含答案

## 一、名词解释 (12%)

1、PCR: 即多聚酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction)。一种体外扩增 DNA 的方法。PCR 使用一种耐热的 DNA 多聚酶及两个单链引物。经:

①高温变性: 将模板分离为两条链;

②低温退火: 使得引物和一条模板单链结合;

③中温延伸: 反应液的游离核苷酸紧接着引物从 5' 端到 3' 端合成一条互补的新链。

三个步骤“变性——退火——延伸”反复循环, 使 DNA 数量呈指数形式增长。

2、Southern bolt: 即 Southern 杂交。是用 DNA 为探针, 与另一个 DNA 样本形成双链, 以测定其特异性序列的方法。大致过程为: 提取样本 DNA→酶切→电泳→转印→杂交→放射自显影→分析。以此可以鉴定 DNA 水平的相关遗传信息。

3、外显子: 在原核转录物中通过 RNA 剪接反应将内含子去除后而保留下来 RNA 序列或基因中与这段 RNA 序列相对应的 DNA 序列。

4、G 蛋白: 三聚体 GTP 结合调节蛋白。位于细胞膜胞浆面, 能与 GDP 或 GTP 结合的外周蛋白, 由  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  三个亚基组成。以三聚体存在并与 GDP 结合者为非活化型。当  $\alpha$  亚基与 GTP 结合并导致  $\beta$ 、 $\gamma$  二聚体脱落时则转变为活化型, 可作用于膜受体的不同激素, 通过不同的 G 蛋白介导影响质膜上某些离子通道或酶活性, 继而影响细胞内后续相关的生物学效应。

5、基因组: 一个物种的单倍体细胞中所有遗传物质的总和。其大小可用全部的碱基对总数表示。

6、反式作用子: 即反式作用因子, 指一群与基因表达调控有关的蛋白因子。由某一基因表达, 通过与特异的顺式作用元件作用, 反式作用 (具体可为激活, 也可以为抑制) 另一个基因的转录。

## 二、问答题:

## 1、简述 DNA 结构 (15%)

DNA 的结构包括: 一级结构、二级结构和高级结构, 具体而言:

(1)DNA 的一级结构: 指 DNA 分子中核苷酸的排列顺序。

(2)DNA 的二级结构: 一般为双螺旋结构, 但不排除有其他构型存在 (特别是以单链 DNA 为遗传物质的生物)。双螺旋结构为:

①主链: 脱氧核糖和磷酸基通过酯键交替连成反向平行的两条主链。绕成共同中心轴的向右盘绕的双螺旋构型。主链位于双螺旋的外侧。

②碱基: 碱基位于双螺旋的内侧, 垂直于螺旋轴。同一平面的碱基在两条主链间形成碱基对。A—T、G—C 之间以氢键配对。

③大、小沟: 指双螺旋表面凹下去的沟槽。由于碱基对堆积和糖-磷酸骨架扭转造成, 故沟槽有大、小之别。

④B 型 DNA (为 DNA 双螺旋的典型结构) 相系参数为: 螺旋直径为 2.0nm; 螺距为 3.4nm, 一周有 10.2bp; 相邻碱基之间的距离为 0.34nm。

(3)DNA 的高级结构: DNA 双螺旋进一步扭曲盘绕成的特定的空间结构。主要形式为超螺旋结构 (可以正超螺旋和负超螺旋)。

## 2、何为分子克隆? 扼要说明分子克隆技术操作要点和常用的工具酶 (15%)。

(1)分子克隆: 指遗传信息的分子操作与精密施工, 即按人们需求, 将一种生物的基因或化学合成的基因与合适的载体 DNA 分子连接构成重组 DNA 分子, 然后将导入受体细胞中复制扩

增，从而获得该基因片段的大量拷贝。

(2)技术要点：

①制备目的基因，并选择合适的载体。

i 目的基因可以从相关的生物中进行提取，也可用化学合成的手法获得；

ii 选择载体，一般多为松弛型质粒，但应据具体的情况进行分析。

②连接目的基因与载体

用限制性内切酶切割目的基因，并用连接酶进行连接，制备重组 DNA 分子。

③导入宿主细胞

把重组载体导入相应的的宿主细胞，常为大肠杆菌、酵母等。

④筛选

对上一步得到的转化子进行筛选，常用的方法有蓝白斑筛选法、抗生素筛选法等。

⑤扩增和提取

使用相的关方法使宿主细胞和寄于其中的载体大量复制，在合适的时机进行提取。

(3)工具酶：

①限制性内切核酸酶：用于切割专一性识别位点；

②连接酶：用于连接 DNA 片段，构成重组载体；

③DNA 聚合酶 I：用于合成 cDNA 的第二条链、制备探针、序列分析等；

④反转录酶：用于合成 cDNA，也有时用于替代 DNA 聚合酶 I 进行填补、标记或 DNA 序列分析。

此外，还有核酸外切酶、末端转移酶等等。

3、何为基因突变？扼要说明基因突变的类型及其后果（15%）。

(1)基因突变：遗传物质中除遗传重组外的任何可遗传学的改变，大多可产生一定的表型效应。

(2)基因突变的类型及其后果：

基因突变的类型据不同的分类的标准而定，但后果总是遗传物质的变化，并可能带来一定的表型变化，为生物进化提供了素材。

①据发生的原因：自发突变、诱变；

②据碱基的改变数目：单点突变、多点突变；

③据对可读框的影响：

i 移框突变——插入了非 3 的整数倍个碱基，因此改变了产物的氨基酸组成，并常有蛋白质的合成过早的终止；

ii 非移框突变——插入了 3 的整数倍个碱基，产物蛋白质的氨基酸仅有几个被替换，产物有活性或有部分活性。

④据对遗传信息的改变：

i 同义突变——某一个密码子突变成为另一个同义密码子，不影氨基酸序列；

ii 错义突变——某一个密码子突变成为另一个非同义密码子，影氨基酸序列；

iii 无义突变——某一个密码子突变成为终止密码子，过早地中断了蛋白蛋的合成。

⑤据突变的方向：

i 回复突变——突变型变成野生型；

ii 正向突变——野生型变成突变型。

⑥据对表型的效应：

i 形态突变——影响生物的形态；

ii 生化突变——影响生物的代谢过程；

iii 致死突变和条件致死突变——导致生物个体死亡，或在一定条件死亡。

⑦据其他分类的标准还有：启动子上升突变与启动下降突变……

4、RNA 聚合酶的作用特点。以真核细胞 mRNA 为例说明转录产物的加工过程（15%）。

(1)RNA 聚合酶的作用特点：

- ①在 DNA 的指导下，完成了 RNA 的合成，实现遗传信息从 DNA 到 RNA 的传递；
- ②RNA 聚合酶的作用具有选择性。只是一个特定的时间和空间，选择一条特定的 DNA 链从一个特定起点开始转录，并在特点的终点终止；
- ③RNA 聚合酶作用受相关因素调控——是生物基因表达的主要调控点之一；
- ④RNA 聚合酶的转录有连续性，因此转录初产物与 DNA 序列一致（除 U→T）；
- ⑤RNA 聚合酶有定向性：从 5' → 3' 合成 RNA；
- ⑥RNA 聚合酶不用引物，无校对功能，故精确度低于 DNA 聚合酶；
- ⑦在真核生物中，RNA 聚合酶有分工。

(2)真核细胞 mRNA 的转录加工：

真核生物 mRNA 由 RNA 聚合酶 II 催化转录，初始产物为核不均一 RNA（hnRNA）。新生的 hnRNA

从开始形成到转录终止，逐步与蛋白质形成不均一核糖核蛋白颗粒，其加工的内容大致有：

- ①5' 帽子的形成：由磷酸酶作用，水解 5' 端磷酸基；再由鸟苷酸转移酶加上鸟苷三磷酸；有时会有甲基化过程。
- ②3' 端加尾：由内切酶切去 3' 端的一段序列，再由 poly (A) 合成酶催化多聚腺苷酸反应，生成 poly (A)。
- ③剪接：除去内含子，成为成熟的 mRNA。

此外，有时还对 mRNA 进行修饰和编辑。

转录初产物，一般要经过一定的加工，特别是在真核生物中，才能发挥一定的生物学功能，如翻译为蛋白质。这也是生物调控的方式之一。

5、简述基因的表达与调控机理（18%）。

(1)基因的表达机理：基因的表达遵循中心法则，主要内容如下：

- ①DNA→DNA 与 RNA→RNA：为 DNA 与 RNA 的复制，维持生命的延续；
- ②DNA→RNA 与 RNA→蛋白质：为转录和翻译，这是基因的主要过程。遗传信息选择性与从 DNA 流向 RNA，再由 RNA 选择性地流向蛋白质，从而使生物表现出独特的性状。
- ③RNA→DNA：为逆转录，这是过中心法则的一个补充。对一些逆转录病毒而言，逆转录是生活周期不可缺少的一步。
- ④朊病毒：朊病毒的蛋白质，是正常蛋白质的一个异构体。能使正常的蛋白质发生异构化，成为新的朊病毒，表现为：蛋白质→蛋白质。但本质上可以说是一种特别的催化剂，而非完整生命体。

(2)基因表达调控的机理：

基因表达存在时空差异性。也就是说，不同的生活时期基因表达存在的时间特异性和不同细胞中（或同一物种的不同个体中）存在空间特异性。具体的调控机理在不同生物有不同特点，主要有真核生物的调控与原核生物的调控二类：

①原核生物的调控：

原核生物的调控是在一个特定的环境中为细胞创造高速生长的基础，或使细胞在受损伤时，尽快修复。主要通过转录调控，以开启或关闭某些基因的表达来适应环境条件。环境因子常是调控的诱导物，群体中每个细胞对环境变化都是直接与基本一致的。

i 原核生物的调控多采用操纵子模型，协调相关蛋白质的表达；

- ii  $\sigma$  因子决定的 RNA 聚合酶的识别特异性;
- iii 阻遏蛋白与阻遏机制: 以特异的阻遏蛋白的调控特异的表达过程;
- iv 转录与翻译常有空间上同一, 故翻译对转录有一定的影响。

②真核生物的调控:

真核生物的基因调控有瞬时调控(相当于原核生物对环境条件作出的反应)与发育调控(决定真核细胞生长、分化、发育的全部过程)。具体而言, 随着遗传信息的传递(从 DNA 到蛋白质), 调控在不同的水平上分别进行, 从而严格地控制着遗传信息的表达。

值得一提的是, 无论是真核生物还是原核生物, 主要调控点都是转录, 这有助于避免不必要的浪费, 使生命活动保持高效。

6、阐述目前国际上的植物基因组研究的现状和发展趋势(10%)。

(略)