

南京航空航天大学
二〇〇八年硕士研究生入学考试试题

考试科目: 分子生物学

说 明: 所有试题答案必须写在答题纸上, 答案写在试卷上无效

一、名词解释 (共 8 题, 每题 5 分)

- 1、多核糖体
- 2、解旋酶
- 3、信号肽
- 4、变偶假说 (摆动假说)
- 5、重组修复
- 6、蛋白激酶
- 7、引物酶及引物体
- 8、锚定 PCR

二、填空题 (共 10 题, 每题 2 分)

- 1、DNA 的物理图谱是 DNA 分子的_____片段的排列顺序。
- 2、RNA 酶的剪切分为_____、_____两种类型。
- 3、蛋白质的跨膜需要_____的引导, 蛋白伴侣的作用是_____。
- 4、分子生物学的研究内容主要包含_____、_____、_____三部分。
- 5、证明 DNA 是遗传物质的两个关键性实验是_____、_____这两个实验中主要的论点证据是: _____。
- 6、蛋白质多亚基形式的优点是_____、_____、_____。
- 7、蛋白质折叠机制首先成核理论的主要内容包括_____、_____、_____。
- 8、质粒的复制类型有两种: 受到宿主细胞蛋白质合成的严格控制的称为_____, 不受宿主细胞蛋白质合成的严格控制称为_____。
- 9、PCR 的基本反应过程包括 _____、_____、_____三个阶段。
- 10、限制性内切酶的切割方式有三种类型分别是 _____、_____、_____。

三、简答题 (共 5 题, 共 40 分)

- 1、蛋白质的功能. (7 分)
- 2、蛋白质合成中如何保证其翻译的正确性? (10 分)
- 3、简述基因工程的基本操作步骤及其应用意义. (13 分)
- 4、参与蛋白质生物合成体系的组分有哪些? 它们具有什么功能? (10 分)
- 5、当细胞中某一个蛋白激酶被活化, 结果却发现细胞中有一个蛋白质的磷酸化水平没有提高, 反而降低了. 请问这个结果可不可信? 如何解释? (10 分)

四、论述题 (共 2 题, 每题 10 分)

- 1、How these two anti-parallel strands are synthesized simultaneously toward the same direction as the fork movement? (Please answer it in English)
- 2、蛋白质跨膜运输有几种类型? 试述信号肽、信号识别蛋白、锚蛋白在蛋白质跨膜运输过程中的作用.

五、综述题 (共 2 题, 每题 15 分)

- 1、论述小鼠基因敲除技术及其过程.
- 2、试述 DNA 复制的过程, 总结复制的基本规律.

南京航空航天大学

二〇〇八年硕士研究生入学考试试题参考答案

考试科目: 分子生物学

一、名词解释 (共 8 题, 每题 5 分)

- 1、多核糖体: mRNA 同时与若干个核糖体结合形成的念珠状结构, 称为多核糖体。
- 2、解旋酶: 是一类通过水解 ATP 提供能量, 使 DNA 双螺旋两条链分开的酶, 每解开一对碱基, 水解 2 分子 ATP。
- 3、信号肽: 某些蛋白质在合成的过程中, 在氨基酸末端额外生成 15-30 个富含疏水氨基酸的信号肽, 其作用是使新合成的多肽链易于穿过膜系统, 前往细胞的固定部位, 随后被信号肽酶切除。。
- 4、变偶假说: 指反密码子的前两个碱基(3' -端)按照标准与密码子的前两个碱基(5' -端)配对, 而反密码子中的第三个碱基则有某种程度的变动, 使其有可能与几种不同的碱基配对。
- 5、重组修复: DNA 在有损伤的情况下也可以复制, 复制时子代链跃过损伤部位并留下缺口, 通过分子间重组, 从完整的另一条母链上将相应的核苷酸序列片段移至子链缺口处, 然后用再合成的多核苷酸的序列补上母链的空缺, 此过程称重组修复。
- 6、蛋白激酶: 是指能够将磷酸集团从磷酸供体分子转移到底物蛋白的氨基酸受体上的一大类酶。
- 7、引物酶及引发体: 以 DNA 为模板, 以核糖核苷酸为底物, 在 DNA 合成中, 催化形成 RNA 引物的酶称为引物酶及引物体。大肠杆菌的引物酶单独没有活性, 只有与其它蛋白质结合在一起, 形成一个复合体, 即引发体才有生物活性。
- 8、锚定 PCR: 用于扩增已知一端序列的目的 DNA. 在未知序列一端加上一段多聚 dG 的尾巴, 然后分别用多聚 dC 和已知的序列作为引物, 进行 PCR 扩增。

二、填空题 (共 10 题, 每题 2 分)

- 1、限制性内切酶酶解
- 2、自体催化、异体催化
- 3、信号肽、辅助肽链折叠成天然构象的蛋白质
- 4、结构分子生物学、基因表达与调控、DNA 重组技术
- 5、肺炎球菌感染小鼠、T2 噬菌体感染大肠杆菌、生物体吸收的外源 DNA 改变了其遗传潜能
- 6、亚基对 DNA 的利用来说是一种经济的方法、可以减少蛋白质合成过程中随机的错误对蛋白质活性的影响、活性能够非常有效和迅速地被打开和被关闭
- 7、成核、结构充实、最后重排
- 8、严紧型质粒、松弛型质粒
- 9、变性、退火、延伸

10、在对称轴 5' 侧切割产生 5' 粘端、在对称轴 3' 侧切割产生 3' 粘端、在对称轴处切割产生平段。

三、简答题 (共 5 题, 每题 10 分)

1、(共 7 点, 每点 1 分)

酶、信号传递、转运和贮存、结构和运动、营养、免疫、调节

2、(共 5 点, 每点 2 分)

①氨基酸与 tRNA 的专一结合, 保证了 tRNA 携带正确的氨基酸;

②携带氨基酸的 tRNA 对 mRNA 的识别, mRNA 上的密码子与 tRNA 上的反密码子的相互识别, 保证了遗传信息准确无误地转译;

③起始因子及延长因子的作用, 起始因子保证了只有起始氨酰-tRNA 能进入核糖体 P 位与起始密码子结合, 延伸因子的高度专一性, 保证了起始 tRNA 携带的 fMet 不进入肽链内部;

④核糖体三位点模型的 E 位与 A 位的相互影响, 可以防止不正确的氨酰-tRNA 进入 A 位, 从而提高翻译的正确性;

⑤校正作用: 氨酰-tRNA 合成酶和 tRNA 的校正作用; 对占据核糖体 A 位的氨酰-tRNA 的校对; 变异校对即基因内校对与基因间校对等多种校正作用可以保证翻译的正确。

3、①获取外源目的基因; (2 分)

②寻找基因载体(通常为质粒、噬菌体等)使用限制性内切酶, 使目的基因与载体产生相同粘性末端, 两个末端互补连接, 形成重组 DNA; (2 分)

③通过转化(或感染)将重组 DNA 引入寄主细胞; (2 分)

④从大量的寄主细胞中筛选出带有重组体的细胞进行克隆。(2 分)

意义: ①利用基因工程技术, 可以大量生产在一些正常细胞中产量很低的多肽物质, 用于医药等工业生产中; (1 分)

②定向改造生物基因结构, 生产抗病强、品质优的各种农副产品, 以提高经济价值; (2 分)

③用于生命科学的基础研究; (2 分)

4、①mRNA: 蛋白质合成的模板; (2 分)

②tRNA: 蛋白质合成的氨基酸运载工具; (2 分)

③核糖体: 蛋白质合成的场所; (2 分)

④辅助因子: (a) 起始因子——参与蛋白质合成起始复合物形成; (b) 延长因子——肽链的延伸作用; (c) 释放因子——终止肽链合成并从核糖体上释放出来。(4 分)

5、(1) 结果是可以信的 (4 分)

(2) 可能的情况: a 被活化的蛋白激酶并不直接作用于上述蛋白质 b 被活化的蛋白激酶能活化上述蛋白的磷酸化酶或者抑制上述蛋白的激酶。(6 分)

四、论述题 (共2题, 每题10分)

1、The "trombone" model was developed to explain how synthesis of the Okazaki fragments of the lagging strand matches the continuous synthesis of the leading strand at the *E. coli* replication fork.

(1) HOLOENZYME: In order to copy the two anti-parallel parental DNA strands simultaneously, *E. coli* uses a physically linked holoenzyme complex containing two complete copies of DNA Pol III, a sliding clamp loader, as well as two proteins that bridge two DNA pol IIIs with sliding clamp loader (2').

(2) One DNA Pol III in the holoenzyme efficiently extends the leading strand immediately after the template strand is released from the replication fork (2').

(3), The other DNA Pol III in the holoenzyme synthesizes Okazaki fragments. When the lagging strand DNA polymerase completes the previous Okazaki fragment, it is released from the sliding clamp and the DNA. Then, the clamp loader resided in the holoenzyme uploads the freshly established primer: template junction and sliding clamp onto the empty DNA Pol III to synthesize the next Okazaki fragment. In this way, synthesis of the lagging strand can match the continuous polymerization of the leading strand toward the moving direction of the replication fork (3').

(4) Because these two copies of DNA Pol III are physically linked together, synthesis of the leading and lagging strands is therefore physically coupled. (3')

2、绝大多数跨膜蛋白都具有大约 15-30 个氨基酸的 N 端信号序列或称信号肽, 由信号肽引导跨膜蛋白的运输。(3 分) 原核生物中, 在信号肽的后半段以疏水氨基酸为主, 可形成一段 α 螺旋结构。在信号肽序列之后的一段氨基酸残基也能形成一段 α 螺旋。两段 α 螺旋以反平行方式组成一个发卡结构, 它很容易进入内膜的脂双层。(3 分) 真核生物中, 其信号肽也可形成 α 螺旋, 但这一结构不是插进细胞膜中, 而是在信号识别颗粒的帮助下插入到内质网的内膜中。(2 分) 信号识别颗粒是一个小的 RNA-蛋白质复合物它能够与核糖体相结合并使肽链的延伸暂时受阻, 当它碰到粗面内质网膜上的 72kDa 的 糖蛋白 (信号识别颗粒受体) 时, 就不再阻止核糖体的翻译。(2 分)

五、综述题 (共 2 题, 每题 15 分)

1、2007 年诺贝尔生理学或医学奖授予美国科学家马里奥-卡佩奇和奥利弗-史密西斯、英国科学家马丁-埃文斯, 以表彰他们在干细胞研究方面所作的贡献。这三位科学家是因为“在涉及胚胎干细胞和哺乳动物 DNA 重组方面的一系列突破性发现”而获得这一殊荣的。这些发现导致了一种通常被人们称为“基因打靶”的强大技术。这一国际小组通过利用胚胎干细胞在老鼠身上引入特定基因修饰。(1 分)

通过 DNA 同源重组, 使得胚胎干细胞特定的内源基因被破坏而造成功能丧失, 然后通过胚胎干细胞介导得到该基因丧失的小鼠模型的过程称为基因敲除。

1、打靶载体的构建: 同源序列要足够长, 要含有筛选用的标志基因。(2 分)

2、胚胎干细胞的体外培养 (2 分)

3、打靶载体导入胚胎干细胞 (2 分)

4、同源重组胚胎干细胞的筛选 (2 分)

5、基因敲除胚胎干细胞注射入胚泡 (2 分)

6、胚泡植入假孕小鼠的子宫中 (2 分)

7、杂交育种获得纯合的基因敲除动物 (2 分)

2、以 E. coli 为例, DNA 复制过程分三个阶段: ①起始: 从 DNA 上控制复制起始的序列即起始点开始复制, 形成复制叉, 复制方向多为双向, 也可以是单向, 若以双向进行复制, 两个方向的复制速度不一定相同。由于 DNA 聚合酶不能从无到有合成新链, 所以 DNA 复制需要有含 3' -OH 的引物, 引物由含有引物酶的引发体合成一段含 3—10 个核苷酸的 RNA 片段; ②延长: DNA 复制时, 分别以两条亲代 DNA 链为模板, 当复制叉沿 DNA 移动时, 以亲代 3' → 5' 链为模板时, 子链的合成方向是 5' → 3', 可连续进行, 以亲代 5' → 3' 链为模板时, 子链不能以 3' → 5' 方向合成, 而是先合成出许多 5' → 3' 方向的冈崎片段, 然后连接起来形成一条子链; ③终止: 当一个冈崎片段的 3'-OH 与前一个冈崎片段的 5' -磷酸接近时, 复制停止, 由 DNA 聚合酶 I 切除引物, 填补空隙, 连接酶连接相邻的 DNA 片段。DNA 复制时, 由 DNA 解旋酶(又称解链酶)通过水解 ATP 获得能量来解开 DNA 双链, 并沿复制叉方向移动, 所产生的单链很快被单链结合蛋白所覆盖, 防止 DNA 的变性并保护其单链不被降解, 复制叉前进过程中, 双螺旋产生的应力在拓扑异构酶的作用下得到调整。(7 分)

DNA 复制基本规律: ①复制过程为半保留方式; ②原核生物单点起始, 真核生物多点起始, 复制方向多为双向, 也有单向; ③复制方式呈多样性, (直线型、Q 型、滚动环型…等); ④新链合成需要引物, 引物 RNA 长度一般为几个~10 个核苷酸, 新链合成方向 5' → 3', 与模板链反向, 碱基互补; ⑤复制为半不连续的, 以解决复制过程中, 两条不同极性的链同时延伸问题, 即…一条链可按 5' → 3' 方向连续合成称为前导链, 另一条链先按 5' → 3' 方向合成许多不连续的冈崎片段(原核生物一般长 1000-2000 个核苷酸, 真核生物一般长 100--200 个核苷酸), 再通过连接酶连接成完整链, 称后随链, 且前导链与后随链合成速度不完全一致, 前者快, 后者慢; ⑥复制终止时, 需切除前导链、冈崎片段的全部引物, 填补空缺, 连接成完整 DNA 链; ⑦修复和校正 DNA 复制过程出现的损伤和错误, 以确保 DNA 复制的精确性。(8 分)